

Institut für Lebensmittelsicherheit und -hygiene
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. Roger Stephan

**Betriebsspezifische Untersuchungen zur Epidemiologie
von *Campylobacter* spp.
in Schweizerischen Pouletmastbetrieben**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Marianne Ring

Tierärztin
von Zürich

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. Roger Stephan, Referent

Prof. Dr. Richard Hoop, Korreferent

Zürich 2005

Leroy

für Deine tägliche Unterstützung
und Dein fröhliches Wesen

INHALTSVERZEICHNIS

1	Zusammenfassung / Summary	Seite	3
2	Einleitung	Seite	5
3	Literaturübersicht	Seite	9
3.1	Mikrobiologie von <i>Campylobacter</i> spp.	Seite	9
3.2	Kolonisation der Mastpoulets mit <i>Campylobacter</i> spp.	Seite	9
3.3	Prävalenzen von <i>Campylobacter</i> spp. in Mastpouletherden	Seite	11
3.4	<i>Campylobacter</i> -Eintragsquellen in Mastpouletherden	Seite	13
3.4.1	Horizontale Übertragung	Seite	13
3.4.1.1	Futter	Seite	13
3.4.1.2	Einstreu	Seite	13
3.4.1.3	Trinkwasser	Seite	13
3.4.1.4	Wildtiere und Insekten	Seite	14
3.4.1.5	Haustiere und der Mensch	Seite	15
3.4.1.6	Aerosole	Seite	16
3.4.1.7	Persistierende Kontamination von Masthallen	Seite	16
3.4.2	Vertikale Übertragung	Seite	16
3.4.2.1	Zuchthähne	Seite	17
3.4.2.2	Zuchthennen	Seite	17
3.4.2.3	Eier	Seite	17
3.5	Kolonisation der Mastpoulets auf dem Weg zum Schlachthof	Seite	18
3.6	Kontamination von Poulet-Schlachttierkörpern während des Schlachtprozesses	Seite	19
3.7	Heterogenität von <i>C. jejuni</i> -Populationen in Mastpouletherden	Seite	19
4	Material und Methoden	Seite	20
4.1	Mastbetriebe	Seite	20
4.2	Probenentnahme	Seite	26
4.3	Grundrisse der Pouletmastställe und Verteilung der Probenentnahmestellen	Seite	28

4.4	Kultureller Nachweis von <i>Campylobacter</i> spp.	Seite	29
4.5	Keimidentifikation	Seite	30
4.6	Phänotypisierung	Seite	31
4.7	Genotypisierung	Seite	32
4.7.1	<i>fla</i> -typing	Seite	32
4.7.2	PFGE	Seite	34
4.8	Statistik	Seite	35
5	Ergebnisse	Seite	36
5.1	Keimidentifikation	Seite	36
5.2	Prävalenzen	Seite	36
5.3	Phänotypisierung	Seite	38
5.4	Genotypisierung	Seite	39
6	Diskussion	Seite	41
6.1	Prävalenzen	Seite	41
6.2	Phänotypisierung	Seite	48
6.3	Genotypisierung	Seite	52
6.4	Ausblick	Seite	56
7	Abbildungen	Seite	58
8	Literatur	Seite	82
9	Dank	Seite	96

1 Zusammenfassung

Verteilt auf neun Pouletmastbetriebe wurde in zehn BTS- und vier Freiland-Herden während der 35 bis 58 Tage dauernden Mastperioden zweimal wöchentlich die Ausbreitungsdynamik von *Campylobacter* spp. innerhalb der Herden untersucht. Isolierte Stämme wurden zusätzlich phänotypisch mittels Antibiotika-Resistenzprofilen und genotypisch mittels einer RFLP-Analyse des *flaA*-Gens sowie einer Makrorestriktionsanalyse mit PFGE weitergehend charakterisiert.

Von den insgesamt 4112 Proben waren 157 (3.8%) *Campylobacter*-positiv. Alle Stämme erwiesen sich als *C. jejuni*. Die positiven Proben verteilten sich auf drei BTS- und zwei Freiland-Herden aus fünf Betrieben. Die Kolonisation der Herden erfolgte in der 5. bis 7. Mastwoche und liess sich bis zur Schlachtung weiterverfolgen.

Resistenzprofile erwiesen sich zur Phänotypisierung von *Campylobacter*-Populationen in Mastpouletherden als ungeeignet, da sich aufgrund fehlender standardisierter Beurteilungskriterien zur Resistenzprüfung bei einzelnen Antibiotika keine gesicherten Aussagen machen liessen.

Hingegen wurde in jedem der fünf Betriebe ein herdenspezifischer, bis zur Schlachtung vorherrschender *Campylobacter*-Genotyp nachgewiesen. In Kombination mit der beobachteten Ausbreitungsdynamik von *C. jejuni* innerhalb der Herden lässt dies auf jeweils eine Eintragsquelle aus der Umwelt schliessen, wobei unterschiedliche Eintragswege aufgezeigt werden. Diese Erkenntnisse dienen der Weiterentwicklung von Bekämpfungsstrategien auf Bestandesebene.

Summary

Distributed over nine farms, ten conventional and four extensive outdoor broiler flocks were investigated twice a week during their 35 to 58 days lasting rearing period to observe the dynamic spread of *Campylobacter* spp. within the flocks. Additionally, isolated strains were phenotyped by antibiotic resistance patterns and genotyped by RFLP analysis of the *flaA* gene and macrorestriction profiling with PFGE.

Of the 4112 collected samples, 157 (3.8%) were tested *Campylobacter*-positive. All the strains revealed to be *C. jejuni*. The positive samples were distributed over three conventional and two extensive outdoor flocks on five farms. The flocks became colonized at the 5th to 7th week of age and stayed colonized until slaughter.

Resistance patterns revealed not to be a suitable method to phenotype the populations of *Campylobacter* spp. in broiler flocks as they failed to provide assured data due to missing standardized breakpoints for antibiotic resistance determination in *Campylobacter* spp. for several antibiotics.

However, each of the five flocks showed one flock-specific genotype of *Campylobacter* predominating until slaughter. The combination of this fact with the observed dynamic spread of *C. jejuni* within the flocks indicates that a single source of impact from the environment is responsible for the colonization of each of the flocks, presuming different ways of entry. These conclusions may serve to further develop combat strategies at farm level.

2 Einleitung

Seit der ersten Beschreibung einer lebensmittelbedingten Infektion mit *Campylobacter* spp. (Skirrow, 1977) hat diese Erregergruppe weltweit als sogenannte „emerging foodborne pathogen“ grosse Bedeutung erlangt. In der Schweiz unterliegt die Campylobacteriose des Menschen der Meldepflicht. Viele Campylobacteriosefälle werden aber gar nie einem Arzt vorgestellt und bleiben daher auch statistisch unerkannt. Im Jahre 2003 wurden dem Bundesamt für Gesundheit 5692 Fälle von Campylobacteriose beim Menschen gemeldet; dem standen im selben Jahr 2233 Fälle von Salmonellose gegenüber (BAG, 2004). Das ergab entsprechende Inzidenzen von 78 gegenüber 31 pro 100000 Einwohner (Abbildung 1). *Campylobacter* spp. hat im Jahre 1995 *Salmonella* spp. als häufigsten Erreger akuter humaner bakterieller Gastroenteritiden abgelöst und zeigt damit in der Schweiz denselben Trend wie in den meisten Teilen der industrialisierten Welt (Skirrow, 1991; PulseNet, 2004).

In den gemässigten Klimaten stellen *Campylobacter jejuni* und *Campylobacter coli* ubiquitäre Bakterien dar, welche die intestinale Mucosa der meisten Warmblüter besiedeln können, einschliesslich der zur Fleischgewinnung gehaltenen Haustiere und des Menschen. Als Hauptreservoir scheint jedoch der Vogeldarm zu dienen, wobei Wildvögel ebenso eine Rolle spielen wie das Hausgeflügel (Broman et al., 2002). Während *Campylobacter* spp. bei Haustieren und Vögeln gewöhnlich als kommensaler Darmbewohner auftritt, lösen die meist sporadisch auftretenden Infektionen beim Menschen eine akute Enteritis mit starken gastrointestinalen Symptomen wie abdominalen Krämpfen, Durchfall, Übelkeit, Erbrechen und Fieber aus und sind in der Regel selbstlimitierend (Skirrow, 1977; Butzler, 2004). Bei unbehandelten Patienten kommt es zu einer Erregerausscheidung während zwei bis drei Wochen nach der Erkrankung. Als Komplikationen können unter anderem Septikämie bei Immunschwäche, Meningitis bei Neugeborenen, septischer Abort, Cholezystitis, Harnwegsinfektionen, Hautexantheme, reaktive Arthritis, das

Reitersche Syndrom und das Guillain-Barré-Syndrom auftreten (Dedié et al., 1993).

Campylobacter spp. wird zum überwiegenden Teil durch vom Tier stammende Lebensmittel auf den Menschen übertragen (Kapperud et al., 1992; BVET, 2004); häufig werden Campylobacteriosen auch auf Auslandsreisen erworben (Schorr et al., 1994). Bereits 1962 vermutete King, dass Pouletfleisch die primäre Infektionsquelle für den Menschen darstellt, was durch spätere Studien bewiesen wurde (King, 1962; Skirrow, 1991; Butzler, 2004). Es wurde gezeigt, dass *Campylobacter* spp. während des Schlachtprozesses die Poulet-Schlachttierkörper kontaminiert, die weiteren Verarbeitungsprozesse in der Lebensmittelkette überlebt und damit ein Risiko für die menschliche Gesundheit darstellt (Jørgensen et al., 2002; Keener et al., 2004). Allerdings wurden auch Fleisch von anderen Tierarten, Rohmilch und unbehandeltes Trinkwasser als Infektionsquellen beschrieben, und der enge Kontakt zu Haustieren stellt insbesondere bei Kindern ein erhöhtes Infektionsrisiko dar (Shane, 2000; Hänninen et al., 2002; Endtz et al., 2003; Neimann et al., 2003; Damborg et al., 2004; Hald et al., 2004a; Nygård et al., 2004; Siemer et al., 2004).

In vielen Ländern wurde eine auffällige saisonale Verteilung der Campylobacteriosen beschrieben (Nylen et al., 2002). Die Koinzidenz mit dem saisonalen Auftreten von *Campylobacter* spp. bei Mastpoulets ist wohl kaum zufällig. Es konnten sogar übereinstimmende Genotypen bzw. Subtypen von *C. jejuni* aus Patienten und Mastpoulets derselben Zeitspanne und Lokalität isoliert werden (Kramer et al., 2000; Hein et al., 2003). Andere Autoren wiederum sprechen von grossen Diskrepanzen in antimikrobiellen Resistenzprofilen und hoher genetischer Diversität bei entsprechenden *Campylobacter*-Stämmen von Poulet und Mensch (Luber et al., 2003b; Chu et al., 2004).

Die Hauptstrategie, die Infektionsrate beim Menschen zu senken, umfasst die Reduktion oder sogar Elimination von *C. jejuni* in/aus der Lebensmittelkette. Verschiedene mechanische (z.B. Häutung), physikalische (z.B. Tiefgefrieren),

chemische (z.B. Peressigsäure) und biologische (z.B. Bakteriophagen) Verfahren wurden bisher mit mässigem Erfolg auf ihre Tauglichkeit getestet, ohne Qualitätsverlust des Endproduktes die Kontaminationsrate von *Campylobacter* spp. auf Poulet-Schlachttierkörpern zu senken (Dufrenne et al., 2001; Berrang et al., 2002; Atterbury et al., 2003; Connerton et al., 2004). Ferner wurde in Risikoanalysen eine Senkung des Erkrankungsrisikos durch Konsum einiger Esswaren wie z. B. Quark, Hüttenkäse oder roher Früchte und Beeren berechnet, und daher wird die Möglichkeit diskutiert, ob solche Esswaren einen gewissen Infektionsschutz gegen *Campylobacter* spp. bieten könnten (Schorr et al., 1994; Kapperud et al., 2003). Wegen der sehr geringen minimalen Infektionsdosis von wenigen Hundert koloniebildenden Einheiten bleiben aber der angemessener Umgang mit rohem Geflügelfleisch mit dem Ziel, Kreuzkontaminationen von genussfertigen Lebensmitteln zu vermeiden, und die ausreichende Erhitzung aller zum menschlichen Verzehr bestimmten Geflügelprodukte bis heute die einzigen verlässlichen Methoden, Infektionen beim Menschen zu verhindern (Shane, 2000; Jørgensen et al., 2002; BAG, 2003; Kapperud et al., 2003).

Nichts desto trotz wird in den letzten Jahren in der Schweiz ein leichter Rückgang der Inzidenzen sowohl von Salmonellosen als auch von Campylobacteriosen verzeichnet (Abbildung 1). Auch im Ausland werden sinkende Zahlen von Campylobacteriosen beobachtet, die mit einem markanten Rückgang der *Campylobacter*-Kontamination auf Poulet-Schlachttierkörpern einhergehen (Stern et al., 2003; Nannapaneni et al., 91st Annual Meeting of the International Association for Food Protection, Phoenix, Arizona, 2004). Vermutungen über die Gründe dafür gehen von besserem Bewusstsein der Konsumenten bzgl. Küchenhygiene, Tiefgefrieren der Schlachttierkörper und verbessertem Hygienemanagement auf den Mastbetrieben bis hin zu nicht identifizierbaren Faktoren wie Variationen des Wetters.

Als latente Zoonose stellt die Campylobacteriose des Menschen das Gesundheitswesen, die Lebensmittelindustrie und die Wissenschaftler

weiterhin vor eine grosse Herausforderung. Von *Campylobacter* spp. besiedelte Tiere verhalten sich klinisch völlig unauffällig und können nur durch gezielte bakteriologische Untersuchungen ermittelt werden. Selbst an den Schlachttierkörpern sind keine makroskopischen Veränderungen ersichtlich, so dass kontaminierte Fleischprodukte ungehindert in den Detailhandel gelangen können.

Ein wichtiger Ansatzpunkt zur Kontrolle der Infektionsrate des Menschen ist daher die Verhinderung der Kolonisation von Mastpoulets mit *C. jejuni*, so dass die Erreger gar nicht erst in den Schlachtbetrieb eingebracht werden (Evans, 1992). Bekämpfungsmassnahmen auf Bestandesebene haben wohl für Salmonellen, nicht aber für *C. jejuni* die gewünschte Wirkung gezeigt. Die Gründe, warum die Massnahmen in diesem Falle versagt haben, blieben bis heute unklar. Wohl sind mögliche Eintragsquellen (z.B. Wildvögel, Fliegen, Trinkwasser), der ungefähre Kolonisationszeitpunkt und die rasche Ausbreitung der *Campylobacter*-Kolonisation innerhalb einer Mastherde bekannt (Shanker et al., 1990; Jacobs-Reitsma et al., 1995; Berndtson et al., 1996b; Shreeve et al., 2000); es liegen jedoch nur wenige Daten zur Epidemiologie der *Campylobacter*-Population während der Zeitdauer einer Mastperiode vor. Folgende Fragen drängen sich in diesem Zusammenhang auf: (i) Zeichnet ein Genotyp oder mehrere verantwortlich für die Kolonisation innerhalb eines Betriebes? (ii) Kommt es innerhalb einer Mastperiode zu einer Verschiebung der Genotypenverteilung? (iii) Setzt sich innerhalb der Mastperiode ein Genotyp durch? (iv) Was zeichnet dann einen solchen Genotypen aus (z.B. ein Resistenzprofil)?

Ziel dieser Arbeit war es, in verschiedenen Pouletmastbetrieben der Schweiz über die ganzen Mastzeiten verteilt Untersuchungen zur Ausbreitung von *Campylobacter* spp. durchzuführen und isolierte Stämme sowohl phänotypisch als auch genotypisch weitergehend zu charakterisieren. Die Ergebnisse sollten Aussagen zur klonalen Verwandtschaft der gefundenen Stämme zulassen und als Grundlage für die Weiterentwicklung von Bekämpfungsstrategien auf Bestandesebene dienen.

3 Literaturübersicht

3.1 Mikrobiologie von *Campylobacter* spp.

Seit dem Ende des 18. Jahrhunderts ist die Bakteriengattung *Vibrio* bekannt. Die Bezeichnung „*Campylobacter*“ (griechisch für "gebogenes Stäbchen") wurde 1963 von Sebald und Véron als generischer Name für die mikroaerophilen Vibrios vorgeschlagen, weil sich diese Organismen in gewissen grundlegenden Eigenschaften von der Gruppe der *V. cholerae* und der halophilen Gruppe unterscheiden (Sebald and Véron, 1963).

Campylobacter sind schlanke, korkenzieherartig gebogene, meist bipolar monotrich begeißelte Stäbchen (Abbildung 2), die sich lichtmikroskopisch Gram-negativ und komma-, S- oder Vogelflügel-förmig präsentieren und im Phasenkontrast eine schnelle Hin- und Herbewegung erkennen lassen (Keener et al., 2004). Für das Wachstum auf Labormedien benötigen sie eine spezielle Atmosphäre, die sich aus 5% Sauerstoff, 10% Kohlendioxyd und 85% Stickstoff zusammensetzt (Stern and Kazmi, 1989). *C. jejuni* und *C. coli* gehören zu den sogenannten thermophilen *Campylobacter* mit einem Wachstumsoptimum bei 42 °C. Beide sind Oxidase- und Katalase-positiv, wohingegen nur *C. jejuni* Hippurat zu hydrolysieren vermag. Die meisten Stämme sind resistent gegen Cephalothin (Koenraad et al., 1995; Ali et al., 2003; Tjaniadi et al., 2003). In der Umwelt besitzt *Campylobacter* eine geringe Tenazität, wobei seine hohe Empfindlichkeit gegen Austrocknung insbesondere bei Raumtemperatur hervorzuheben ist (Doyle and Roman, 1982).

3.2 Kolonisation der Mastpoulets mit *Campylobacter* spp.

Neben Milz und Leber kolonisiert *C. jejuni* vor allem den Darmtrakt der Hühner, insbesondere die Blinddärme, und ist daher in den Faeces besiedelter Mastpoulets leicht nachzuweisen (Achen et al., 1998). Da Hühner Koprophagie zeigen, ist die fäkale Ausscheidung von *Campylobacter* vermutlich ein wichtiger Faktor für die extrem schnelle Ausbreitung der Bakterien selbst in grossen Mastpouletherden. Wurde eine Herde einmal

positiv getestet, breitet sich die *Campylobacter*-Besiedlung der Vögel innert weniger Tage auf nahezu 100% der Tiere aus (Evans et al., 2000; Shreeve et al., 2000). Experimentell wurde nachgewiesen, dass die Kolonisationsgeschwindigkeit zwar vom *C. jejuni*-Stamm und von der Grösse des Inokulums abhängt, nicht aber vom Alter der Poulets (Shanker et al., 1988; Shanker et al., 1990). Frisch geschlüpfte Küken scheinen allerdings frei von *Campylobacter* zu sein; die natürliche Kolonisation von Mastpouletherden erfolgt erst im Alter von zwei bis fünf Wochen und hält bis zur Schlachtung an (Evans, 1992; Jacobs-Reitsma et al., 1995; Berndtson et al., 1996b).

Ab der dritten Woche nach experimenteller Inokulation von Küken mit *C. jejuni* nimmt die fäkale Ausscheidungsrate wieder ab. Sowohl die Anzahl kolonisierter Vögel als auch die Anzahl in den Caeca nachweisbarer Organismen sinkt stetig (Achen et al., 1998). Die Gründe für diese Selbstlimitierung bleiben unklar, obwohl erworbene Immunität eine Rolle spielen dürfte (Cawthraw et al., 1994).

Dies wirft die Frage nach einer möglichen Impfung gegen *C. jejuni* auf. Einerseits stimmt der Titerabfall maternalen Antikörper bis zu deren Verschwinden in der dritten bis vierten Lebenswoche der Poulets auffallend mit dem Auftreten von *C. jejuni* in Mastpouletherden überein (Sahin et al., 2001). Andererseits blieben Impfversuche in Pouletherden bislang nur teilweise erfolgreich und sind daher von fraglichem Nutzen (Khoury and Meinersmann, 1995; Rice et al., 1997). Eine vielversprechende Alternative zur Impfung stellt das Prinzip der „competitive exclusion“ dar, wobei ein definiertes oral verabreichtes Bakterieninokulum mit *Campylobacter* konkurrenziert und damit dessen Kolonisation zu reduzieren vermag (Schoeni and Wong, 1994). Zudem werden verschiedene Substanzen wie z. B. organische Säuren diskutiert, die als Futter- oder Trinkwasserzusatz die Mastpoulets weniger anfällig für *Campylobacter*-Kolonisation machen sollen (Chaveerach et al., 2002; Heres et al., 2004).

Die Verzögerung der Herdenkolonisation mit *C. jejuni* bis zur etwa dritten Lebenswoche scheint auf angeborenen Eigenschaften der Küken zu beruhen,

tritt sie doch selbst bei jungen Freiland-Küken in Erscheinung (Newell and Fearnley, 2003). Neben den maternalen Antikörpern werden als Gründe dafür auch die Reifung der mukosalen Immunität, Veränderungen in der Darm-Mikroflora, hemmende Effekte durch Kommensale im Darm der Küken und Änderung der Futterzusammensetzung mit Auswirkungen auf das Milieu im Darm diskutiert (Schoeni and Doyle, 1992; Cawthraw et al., 1994).

3.3 Prävalenzen von *Campylobacter* spp. in Mastpouletherden

Hohe Prävalenzen von *Campylobacter*-positiven Herden scheinen mit gehäuftem Vorkommen humaner Campylobacteriosen zu korrelieren (Newell and Fearnley, 2003); daher ist die Reduktion dieser Prävalenzen ein wichtiges Ziel, um die Inzidenz der Erkrankungen beim Menschen zu senken. In der Schweiz schwankt die Zahl der bei Schlachtung positiven BTS-Herden (Besonders tierfreundliche Stallhaltungssysteme) zwischen rund 15% im Winter und über 70% im Sommer (persönliche Angaben der Geflügelindustrie). In Anbetracht dessen, dass rund 45% des in der Schweiz konsumierten Geflügelfleisches aus dem Ausland importiert wird, ist ein Blick über die Landesgrenzen hinaus ebenfalls von Interesse. Leider stehen aber nur in beschränktem Ausmass Prävalenzdaten verschiedener Länder zur Verfügung. Nur wenige Länder, z.B. Dänemark und Schweden, erheben routinemässig flächendeckende Daten zur Prävalenz von *Campylobacter* spp. bei Mastpouletherden. Die meisten Daten weltweit stammen aus Stichproben-Untersuchungen und variieren unter den verschiedenen Ländern sehr stark (Tabelle 1). Betrachtet man die vorliegenden Zahlen innerhalb Europas, so fällt – mit Ausnahme Grossbritanniens – ein Süd-Nord-Gefälle der Prävalenz in Mastpouletherden auf.

Das Auftreten von *Campylobacter* spp. in Mastpouletherden zeigt eine saisonale Schwankung mit generell häufigerem Vorkommen in Sommer- als in Wintermonaten (Hänninen et al., 2000; Wedderkopp et al., 2001; Bouwknegt et al., 2004). Dieser Umstand reflektiert möglicherweise das saisonal unterschiedliche Niveau der Umgebungskontamination verbunden mit dem in der wärmeren Jahreszeit vermehrten Kontakt der Mastpoulets mit der Umwelt

durch stärkere Gebäudeventilation und je nach Haltungssystem auch längere Aufenthaltszeiten im Freiland (Hörman et al., 2003; Brown et al., 2004). Allerdings scheint die Klimaveränderung im Frühling auch die Tiere selbst und deren Kolonisierbarkeit mit *C. jejuni* zu beeinflussen (Doyle, 1984).

Tabelle 1: Prävalenzen von *Campylobacter* spp. bei Mastpouletherden in verschiedenen Ländern

Land	Anzahl Herden	Prävalenz (%)	Literatur
Dänemark	929	36	Nielsen et al., 1997
	8911	42.5	Wedderkopp et al., 2001
Deutschland	509	41.1	Atanassova and Ring, 1999
Frankreich	75	42.7	Refrégier-Petton et al., 2001
Grossbritannien	100	81.6	Evans and Sayers, 2000
Italien	158	82.9	Pezzotti et al., 2003
Japan	272	26.8	Ishihara et al., 2004
Norwegen	176	18	Kapperud et al., 1993
Schweden	287	27	Berndtson et al., 1996
Senegal	70	63	Cardinale et al., 2004
Trinidad	645 ^a	80.2	Rodrigo et al., 2005
USA	32	87.5	Stern et al., 2001

^a Anzahl Kloakentupfer vor Schlachtung

Vergleicht man Prävalenzdaten von *Campylobacter* spp. mit solchen von *Salmonella* spp. bei Mastpoulets, so findet man sowohl in Pouletherden als auch auf Produkten aus dem Detailhandel erstens um ein Vielfaches höhere Werte für *Campylobacter* spp. und zweitens nur für diesen Keim die zuvor beschriebene Saisonalität (Dufrenne et al., 2001; Wedderkopp et al., 2001; Meldrum et al., 2004).

3.4 *Campylobacter*-Eintragsquellen in Mastpouletherden

Untersuchungen zu Salmonellen haben die Problematik des Eintrags von Erregern aus der Umwelt in die Mastpouletherden aufgezeigt. Das erworbene Wissen um horizontale und vertikale Übertragungswege beeinflusste in entscheidendem Ausmass die Entwicklung der heutigen Bekämpfungsstrategien. In Bezug auf *Campylobacter* spp. wurde vor allem die horizontale Übertragung untersucht; neuere Studien widmen sich jedoch immer häufiger potentiellen vertikalen Übertragungswegen.

3.4.1 Horizontale Übertragung

Obwohl Mastpoulethallen als mehr oder weniger geschlossene Einheiten betrachtet werden können, stellen die ubiquitär vorkommenden *Campylobacter* in der Umgebung ein potentielles Kolonisationsrisiko für die Tiere dar. Während einige Untersuchungen die horizontale Übertragung aus der Umwelt als die bedeutendste Kolonisationsroute für Geflügel bezeichnen (Jacobs-Reitsma, 1994; Jacobs-Reitsma et al., 1995), konnten andere Studien keinen Zusammenhang zwischen Kontamination der Umgebung und Positivität der Herde aufzeigen (Stern et al., 2001).

3.4.1.1 Futter

Weder im Futter noch in Futterzusätzen für Mastpoulets konnten *Campylobacter* spp. nachgewiesen werden (Jacobs-Reitsma et al., 1995; Berndtson et al., 1996b).

3.4.1.2 Einstreu

In trockener, frischer Einstreu wurden keine *Campylobacter* spp. gefunden (Jacobs-Reitsma et al., 1995). Interessanterweise führte auch die Aufzucht von Poulets auf frisch entnommener Einstreu aus *Campylobacter*-besiedelten Masthallen nicht zur Kolonisation der Versuchstiere (Payne et al., 1999).

3.4.1.3 Trinkwasser

Unbehandeltes Trinkwasser wird verschiedentlich als grosses Kolonisationsrisiko für Pouletherden betrachtet (Evans, 1992; Kapperud et al.,

1993; Chaveerach et al., 2002). Hingegen konnte trotz nachgewiesener *C. jejuni* im Trinkwassersystem dieses nicht als Kolonisationsquelle einer Herde eruiert werden (Zimmer et al., 2003); auch führte die Chlorination des Trinkwassers unter kommerziellen Produktionsbedingungen zu keiner Senkung der Kolonisationsrate von Mastpouletherden (Stern et al., 2002). Letzteres könnte damit begründet werden, dass sich die Bakterien in aquatischen Protozoen wie z.B. *Acanthamoeba polyphaga* oder *Tetrahymena pyriformis* „verstecken“ und diese ihnen als Reservoir in wässrigen Systemen dienen (Dahlgren et al., 12th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter*, and Related Organisms, Aarhus, Denmark, 2003; Newell and Fearnley, 2003). Weitere Autoren betrachten Wasser als Faktor mit geringem Risiko (Humphrey et al., 1993; Berndtson et al., 1996a).

3.4.1.4 Wildtiere und Insekten

Einige Wildtierarten leben in nächster Umgebung oder sogar im Inneren der Pouletmasthallen. *Campylobacter* konnte in Nagetieren nachgewiesen werden, die in der Umgebung von Pouletmastbetrieben gefangen wurden (Annan-Prah et al., 1988; Hiett et al., 2002b).

Obwohl *Campylobacter* in Insekten nur wenige Tage überlebt, können diese als potentielle Vektoren zwischen verschiedenen Reservoiren dienen (Evans, 1992). Fliegen (*Muscidae* und *Calliphoridae*) passieren im Sommer in grosser Anzahl das Ventilationssystem von Pouletmasthallen, sind in beachtlicher Zahl Träger von *C. jejuni* und damit ein potentieller Vektor für den Eintrag von *Campylobacter* aus der Umgebung in die Herde (Abbildungen 3a und 3b) (Berndtson et al., 1996a; Gregory et al., 1997; Hald et al., 2004b). Die Rolle des Glänzenschwarzen Getreideschimmelkäfers, *Alphitobius diaperinus*, als Vektor pathogener Mikroorganismen (z.B. Marek'sche Krankheit, Salmonellen, *Escherichia coli*) ist schon seit längerem bekannt, findet er doch ideale Vermehrungsbedingungen im feuchten Einstreu-Kot-Futterstaub-Gemisch der Geflügelställe (Abbildung 3c) (Boch and Supperer, 1983; McAllister et al., 1994). Es erstaunt deshalb nicht, dass auch *Campylobacter* in diesen Käfern und deren Larven nachgewiesen, ja sogar genetisch identische Isolate in

Käfern und Mastpoulets gefunden wurden (Jacobs-Reitsma et al., 1995; Bates et al., 2004).

Die für *Campylobacter* idealen Überlebensbedingungen im Vogeldarm treffen natürlich neben dem Hausgeflügel auch für Wildvögel zu. Es wurden in den verschiedensten Wildvogelarten *Campylobacter* spp. nachgewiesen, wobei einerseits die beachtlichen Prävalenzen zwischen zehn und 20% in Entenvögeln (*Anatidae*) und Limikolen (*Scolopacidae* und *Charadriidae*) von Interesse sind, deren Arten ja zumeist zu den Zugvögeln gehören, andererseits das häufige Vorkommen von *Campylobacter* bei insectivoren Bodenjägern wie Amsel (*Turdus merula*) und Star (*Sturnus vulgaris*) auffällt, die oft in grösserer Zahl und nächster Nähe zum Menschen und zu Pouletmastbetrieben leben (Yogasundram et al., 1989; Waldenström et al., 2002; Broman et al., 2004). In Schweden bestehen grössere Gemeinsamkeiten zwischen *Campylobacter*-Genotypen von Lachmöwe (*Larus ridibundus*) und Mensch als zwischen solchen von Mastpoulets und Wildvögeln resp. dem Menschen (Broman et al., 2002).

3.4.1.5 Haustiere und der Mensch

Weitere Geflügelarten und andere Haustiere wie Schweine, Rindvieh oder Schafe, die auf demselben Betrieb wie die Mastpoulets leben, werden gemeinhin als grosser Risikofaktor für die *Campylobacter*-Kolonisation einer Mastpouletherde betrachtet (Berndtson et al., 1996b; Bouwknecht et al., 2004). Unter den möglichen Vektoren für die Übertragung von *Campylobacter* von Haustieren auf das Geflügel spielt zweifelsohne der Mensch eine zentrale Rolle (Sjögren and Kaijser, 1989). Ein grosses Kolonisationsrisiko für eine Herde stellt die Kombimast dar, da für die Ausstellung des ersten Teiles der Herde das Hilfspersonal mehrfach in der Masthalle ein und aus gehen muss und damit einen idealen Vektor für den Eintrag von *Campylobacter* aus der Umgebung darstellt (Bull et al., 12th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter*, and Related Organisms, Aarhus, Denmark, 2003). Zudem wird der auf dem Betrieb verbleibende Teil der Herde durch den Stress dieser ersten Ausstellung vermutlich anfälliger für eine

Campylobacter-Besiedlung (Slader et al., 2002). Ein strenges Hygienemanagement, insbesondere der Schuhwechsel an der Hygienebarriere und die gewissenhafte Anwendung eines Desinfektionsmittels zur Schuhdesinfektion, werden immer wieder ins Zentrum der Diskussion um die Produktion *Campylobacter*-freier Poulets gerückt (Humphrey et al., 1993; Gibbens et al., 2001).

3.4.1.6 Aerosole

Campylobacter spp. konnten sowohl in der Luft von Masthallen mit positiven Mastpouletherden als auch in der feuchten Luft von Schlachthöfen während der Schlachtung positiver Herden nachgewiesen werden (Berndtson et al., 1996a).

3.4.1.7 Persistierende Kontamination von Masthallen

Die horizontale Übertragung von einer Mastpouletherde auf die folgende via persistierende Kontamination der Masthalle ist ein selten beobachtetes Ereignis; die Routinereinigung und –desinfektion scheint demnach auszureichen (Jacobs-Reitsma, 1997; Shreeve et al., 2002). Die Kolonisation einer Herde ist nicht vorhersagbar aufgrund des *Campylobacter*-Status der vorhergehenden Herde (Evans and Sayers, 2000). In einer untersuchten Masthalle blieb allerdings das Gebäude selbst als einzig mögliches Reservoir übrig, da wiederholt der gleiche Serotyp in aufeinanderfolgenden Herden gefunden wurde, aber alle erhobenen Proben aus der Umgebung entweder negativ waren oder einen anderen Serotypen aufwiesen (van de Giessen et al., 1992). Eine weitere Untersuchung fand sogar in 11 von 12 Pouletmastställen zwei oder mehr Herden mit identischen *C. jejuni*-Isolaten (Petersen and Wedderkopp, 2001).

3.4.2 Vertikale Übertragung

In älteren Publikationen wird in der Regel berichtet, eine vertikale *Campylobacter*-Übertragung von Elterntierherden auf ihre Nachkommen sei unwahrscheinlich (Shanker et al., 1986; Jacobs-Reitsma et al., 1995). In neueren Untersuchungen wurden jedoch Isolate klonaler Abstammung bei

Zuchtherden und von ihnen abstammenden Mastpouletherden gefunden (Cox et al., 2002a; Nelson et al., 2002).

3.4.2.1 Zuchthähne

Sowohl im Gastrointestinal- als auch im Reproduktionstrakt und Sperma von Mastpoulet-Zuchthähnen wurde *Campylobacter* spp. nachgewiesen (Cox et al., 2001; Cox et al., 2002b). Trotz Genotypisierungsstudien bleibt die Bedeutung dessen für eine allfällige venerische Übertragung auf die Zuchthenne und für die Mastpouletherden-Kolonisation via kontaminierte Eier unklar (Hiett et al., 2003).

3.4.2.2 Zuchthennen

Bakteriologische Untersuchungen bei Zuchthennen ergaben sowohl für *Salmonella* als auch für *Campylobacter* positive Ergebnisse (Jacobs-Reitsma, 1995). *Campylobacter* spp. konnte aus dem gesamten Reproduktionstrakt der Hennen von der Kloake bis zum Magnum isoliert werden (Buhr et al., 2002). Bei individuellen Tieren wurden aus dem Darm und dem Ovidukt teils identische, teils unterschiedliche Genotypen isoliert, was mit einer möglichen aufsteigenden Kolonisation des Oviduktes aus der Kloake, aber auch mit dem denkbaren venerischen Übertragungsweg begründet werden kann (Camarda et al., 2000; Hiett et al., 2002a). Alle Autoren schliessen daraus, dass die vertikale Übertragung über das Ei auf die Nachkommen möglich ist.

3.4.2.3 Eier

Untersucht man frisch gelegte Eier von *C. jejuni*-positiven Hennen, so kann der Keim in etwa vier Prozent der Fälle im Inneren des Eies nachgewiesen werden. Nach sieben Tagen ist allerdings kein Nachweis mehr möglich (Sahin et al., 2003). Allen und Griffiths konnten zeigen, dass *C. jejuni* die Fähigkeit besitzt, die Eischale zu penetrieren; somit könnte eine fäkale Verunreinigung der Eier zur Kontamination des Eiinhaltes führen (Allen and Griffiths, 2001). Nach experimenteller Inokulation befruchteter Eier trugen 11% der gesunden, frisch geschlüpften Küken *C. jejuni* desselben Serotyps wie im Inokulum in ihrem Darmtrakt; solche Küken könnten als Quelle für die Kolonisation einer

Herde fungieren (Clark and Bueschkens, 1985). Aufgrund der zeitlichen Verzögerung des *Campylobacter*-Nachweises in einer Mastpouletherde gilt allerdings die vertikale Übertragung durch kontaminierte Eier allgemein als seltenes Ereignis (Newell and Fearnley, 2003; Sahin et al., 2003).

3.5 Kolonisation der Mastpoulets auf dem Weg zum Schlachthof

Die Kisten für den Transport der Hühner zum Schlachthof wurden positiv auf *Campylobacter* spp. getestet (Berndtson et al., 1996a). Aber auch auf anderen Gegenständen, die beim Transport involviert sind, lassen sich die Keime nachweisen: auf Paletten, Lastwagen- und Hubstaplerrädern, Ladeflächen und Schuhen der Fahrer und des Helferpersonals (Ramabu et al., 2004). Selbst eine *Campylobacter*-negative Herde kann demnach sozusagen in letzter Minute mit dem allgegenwärtigen Keim auf dem Transport noch in Kontakt treten. In der Tat konnten von leeren Transportkisten vor dem Aufladen der Tiere dieselben Subtypen isoliert werden wie später von den Schlachttierkörpern derselben, zuvor negativen Herde (Newell et al., 2001).

Es ist bekannt, dass Stress Störungen der Darmfunktion, verminderte immunologische Widerstandskraft des lebenden Tieres und vermehrte Ausbreitung intestinaler Bakterien bewirken kann (Keener et al., 2004). Für Salmonellen wurde nachgewiesen, dass unter simulierten Transportbedingungen *Salmonella*-positive Mastpoulets mehr Erreger ausschieden als nicht in Transportkisten verladene Kontrolltiere, was möglicherweise mit dem für die Tiere stressvollen Verladevorgang zusammenhängt (Rigby and Pettit, 1980; Line et al., 1997). Mit serologischen Tests ist es möglich, den Transportstress in Mastpoulets direkt nachzuweisen (Tokarzewski et al., 2004). Entsprechend ist es gut nachvollziehbar, dass allein der stressvolle Prozess des Einfangens und Verladens der Hühner in die Transportkisten die Nachweisrate von *Campylobacter* spp. bei den im Schlachthof angelieferten Tieren signifikant erhöht (Slader et al., 2002). In Analogie zu Studien über Salmonellenausscheidung bei Mastkälbern und Wildziegen ist es sogar denkbar, dass in negativ auf *Campylobacter* spp. getesteten Herden allein des Transportstresses wegen aus negativ getesteten

Trägartieren plötzlich aktive Keimausscheider werden (McOrist and Miller, 1981; Corrier et al., 1990).

3.6 Kontamination von Poulet-Schlachttierkörpern während des Schlachtprozesses

Es wurde nachgewiesen, dass selbst bei Herden, die bei Anlieferung noch *Campylobacter*-negativ waren, später auf den Schlachttierkörpern dieselben *Campylobacter*-Stämme isoliert werden können wie auf Karkassen zuvor geschlachteter, positiver Herden (Norinaga et al., 2003). Diese Tatsache ist einleuchtend, betrachtet man die positiven Nachweisdaten von Berndtson et al. für *Campylobacter* auf Schlachthanlagen entlang der gesamten Schlachtlinie und in der stark aerosolhaltigen Luft (Berndtson et al., 1996a). Verschiedene *Campylobacter*-Subtypen scheinen sich allerdings in ihrer Fähigkeit zu unterscheiden, die Umweltstressfaktoren während des Schlachtvorgangs - insbesondere die Kühlung - zu überleben (Newell et al., 2001).

3.7 Heterogenität von *C. jejuni*-Populationen in Mastpouletherden

Die wenigen Untersuchungen zur Heterogenität der *C. jejuni*-Population innerhalb kolonisierter Herden ergaben unterschiedliche Ergebnisse. In Schweden und den Niederlanden wurde gewöhnlich nur ein Serotyp pro Herde gefunden (Jacobs-Reitsma et al., 1995; Berndtson et al., 1996b); analog kolonisierten in britischen Studien jeweils nur ein oder zwei RFLP-Typen eine Herde (Ayling et al., 1996; Shreeve et al., 2000). In einer türkischen Untersuchung werden RFLP-Typen von *C. jejuni* beschrieben, die sogar in gewissen Landesteilen herdenübergreifend gefunden wurden (Ertas et al., 2004). In amerikanischen Studien wurde berichtet, dass normalerweise mehrere Genotypen innerhalb einer Herde nachgewiesen wurden (Hiett et al., 2001; Hiett et al., 2002b). Dänische Untersuchungen zeigten auf, dass in Fällen, in denen mehr als ein *Campylobacter*-Genotyp gleichzeitig die Herde kolonisierten, die verschiedenen Genotypen über längere Zeit koexistierten und einander nicht verdrängten (Petersen et al., 2001).

4 Material und Methoden

4.1 Mastbetriebe

Im Rahmen dieser Arbeit wurden vierzehn Mastumgänge auf neun Pouletmastbetrieben (A bis I) in den Kantonen Luzern, Aargau und Zürich beprobt. Alle Betriebe waren einem der beiden grossen schweizerischen Geflügelschlachthöfe angeschlossen und in deren jeweiligem Betreuungsprogramm integriert. Auf den Betrieben A bis E wurde je ein Mastumgang im Zeitraum September bis November 2003 und April bis Juli 2004 in die Untersuchungen einbezogen. Die Betriebe F und G wurden in den Monaten Januar bis März 2004, die Betriebe H und I in den Monaten April bis Juni 2004 jeweils während eines Mastumganges beprobt. Ein Mastumgang bezeichnet die zwischen fünf und acht Wochen dauernde Aufzuchtperiode der Mastpoulets auf dem Mastbetrieb, beginnend mit dem Einstellen der Eintagsküken und endend mit der Ausstallung und Schlachtung aller Poulets.

Auf allen Betrieben befand sich jeweils nur eine Geflügelmasteinheit, welche als eigenständiges Gebäude vom restlichen Landwirtschaftsbetrieb getrennt war. Betrieb F beinhaltete neben der Geflügelproduktion Rindermast und Limousin-Mastrinderzucht. Auf Betrieb I wurden als weitere Betriebszweige Schweinezucht und ein Hunde- und Katzenferienheim geführt. Alle übrigen Betriebe hielten Milchkühe. Auf einzelnen Betrieben lebten auch ein paar Hausschweine oder Ziegen, nirgends aber Legehennen oder anderes Geflügel. Katzen waren auf jedem Hof zu finden, auf den Betrieben A, B, C, D, G und I auch Hunde.

Die Mastdauer der beprobten Mastumgänge lag zwischen 35 (Kurzmast) und 58 (Freilandmast) Tagen (Tabellen 2 und 3). Während bei Kurz-, Normal- und Freilandmast weniger Tiere pro Fläche eingestallt, bei Erreichen des aus Tierschutzgründen auf 30 kg pro Quadratmeter Bodenfläche festgelegten Maximalgewichts dann aber alle Tiere auf einmal geschlachtet werden, können bei einer Kombimast mehr Eintagsküken pro Fläche eingestallt werden. Ist das Plan-Sollgewicht erreicht, wird nur ein Teil der Herde ausgestallt und geschlachtet. Der andere Teil wird bis zum erneuten Erreichen

des Plan-Sollgewichtes weitergemästet. Die Leerzeit vor den beprobten Mastumgängen, in der sich keine Tiere in der Masthalle befanden, betrug ungefähr eine Woche. In dieser Zeit wurden jeweils die ganze Masthalle, der Vorraum und auf den Betrieben A bis F, H und I auch der sogenannte Wintergarten (siehe unten) ausgeräumt, gründlich gereinigt und desinfiziert. Der Wintergarten im Betrieb G war mit Sand eingestreut, der gemäss betreffendem Pflichtenheft nur jährlich zu wechseln ist, ausser das Auftreten von besonderen Erkrankungen mache eine frühere Erneuerung nötig.

Allen Betrieben sind von den Mastorganisationen strenge präventive Hygienevorschriften auferlegt. Als Grundsatz gilt die strikte Trennung des Mastbetriebes vom Landwirtschaftsbetrieb. Tieren wie z.B. Hunden und Katzen und unbefugten Personen ist der Zugang zur Masthalle untersagt. Eine Hygienebarriere trennt den „weissen“ Bereich, die Hygienezone, in der die Mastpoulets gehalten werden, vom „schwarzen“ Eingangsbereich ab. Um die Hygienebarriere überschreiten zu dürfen, sind Kleiderwechsel (Schutzbekleidung), Schuhwechsel und eine saubere Kopfbedeckung vorgeschrieben, wobei die Stallstiefel immer im weissen Bereich zu verbleiben haben. Besucher müssen saubere Überziehtiefel anziehen und diese vor dem Betreten der Masthalle in die bereitgestellte Desinfektionswanne tauchen. Die Hände werden vor und nach der Stallarbeit gewaschen und desinfiziert. Alle Gerätschaften, die im Maststall verwendet werden, dürfen nur dort und nicht ausserhalb des Maststalles gebraucht werden. Kadaver sind laufend aus dem Stall zu entfernen, vorschriftsgemäss in einer Kadaverannahmestelle zu entsorgen und nicht etwa den Hofkatzen zu verfüttern. Gerade in diesem letzten Punkt erwies sich die Einhaltung der Hygienevorschriften allerdings als fraglich. Das Fernhalten von Wildvögeln und Nagetieren ist in den Freilandbetrieben F bis I naturgemäss nicht durchführbar. In den Betrieben A bis E geschieht dies vornehmlich durch bauliche Massnahmen, wobei der Abdichtung des befestigten, eingezäunten und überdachten Wintergartens besondere Aufmerksamkeit geschenkt wird. Zur Schädlingsbekämpfung innerhalb des Vorraumes und während der Leerzeiten auch in der Masthalle

werden je nach Bedarf Köder ausgelegt, um Mäuse zu fangen, und das Insektizid Gesektin K[®] (Chlorpyrifos) versprüht.

Alle Betriebe verfügen über ein automatisiertes Fütterungs- und Tränkesystem. Die Betriebe A bis D, E (zweite Beprobung), F, G und I füttern ihre Tiere über ein Futterrohrsystem. Dabei gelangt das Futter aus dem Futtersilo entweder zuerst in einen Vorbehälter im Vorraum zur Wägung und von dort weiter ins Rohrsystem (Betriebe A bis E und I) oder direkt ins Rohrsystem (Betriebe F und G), woher es weiter in die Futterbehälter der vier Futterlinien verteilt wird. In den Betrieben E (erste Beprobung) und H wird das Futter aus dem Vorbehälter im Vorraum über ein Kettenfütterungssystem in der Masthalle verteilt. Die Tiere fressen dabei direkt aus den zwei offenen, U-förmigen Trögen, sobald die Kette darin stehenbleibt. Alle Betriebe sind mit Nippeltränken ausgerüstet, wobei Wasserlinien mit und ohne Auffangbecher gemischt vorkommen. Fünf Wasserlinien vermögen jeweils die ganze Masthalle zu versorgen, bei den kleineren Hallen der Freilandbetriebe H und I genügen sogar deren zwei; einzig der Betrieb G hat zusätzlich den Wintergarten mit einer Wasserlinie ausgerüstet.

Die Mastperiode wird in jeweils drei Fütterungsphasen eingeteilt: In der ersten Phase wird Starterfutter gegeben, welches energieärmer, dafür aber proteinreicher ist als Mastfutter, das Futter der zweiten Phase. Beide Futterarten enthalten Antikokzidia in metaphylaktischer Dosierung, ohne deren Einsatz die Herde erfahrungsgemäss an Kokzidiose erkranken würde, denen allerdings eine Absetzfrist für Geflügelfleisch auferlegt ist. Aus diesem Grund wird in der letzten Phase vor der Schlachtung das Antikokzidium-freie Absetzfutter verwendet. Als Trinkwasser für die Tiere dient meistens das gewöhnliche, kontrolliert keimarme Trinkwasser der Gemeinden (Betriebe A, B, D, F, G und H), in den Betrieben C, E und I hingegen wird den Tieren eigenes Quellwasser angeboten.

Als Einstreu in der Masthalle werden in fünf Betrieben (B, E, F, G und H) Hobelspäne verwendet. Der Betrieb C streut mit einem Gemisch aus Hobelspänen und Strohhacksel ein, die Betriebe A (erste Beprobung) und D

verwenden dafür Reisspreu. Als besonders saugfähige Einstreu haben sich auf den Betrieben A (zweite Beprobung) und I Strohwürfel bewährt. Sofern die Tiere der beprobten Mastumgänge Zugang zu den Wintergärten hatten, waren diese entweder mit Langstroh (Betriebe A, C, D, E, H und I), Hobelspänen (Betrieb B) oder mit Sand (Betrieb G) eingestreut.

Als BTS-Betriebe (Besonders tierfreundliche Stallhaltungssysteme) verfügen die Betriebe A bis E über Masthallen mit einem Aussenklimabereich, dem sogenannten Wintergarten. F und G sind Freilandbetriebe, in denen der Auslauf den Tieren im Winter jeweils nicht zur Verfügung steht, sondern nur die Masthalle und je nach Aussentemperatur auch der Wintergarten. Die Freilandbetriebe H und I stellen den Tieren ab dem 21. Lebenstag auch im Winter den Wintergarten stets zur Verfügung, und selbst der Zugang zum Freiland bleibt ihnen nur bei äusserst garstiger Witterung verwehrt.

Je nach Grösse der Masthalle und Masttyp wurden zwischen 3800 und 14720 Küken eingestallt (Tabellen 2 und 3). Im ersten Mastumgang der Betriebe A, C und E, im zweiten Mastumgang des Betriebes D sowie in den Betrieben H und I wurden aus dem Ausland importierte Eintagsküken verwendet, ansonsten stammten alle Küken aus den Brütereien der firmeneigenen, schweizerischen Elterntierparks. Die Betriebe A bis E hatten den Intensivmasthybrid „Ross PM3“, die Betriebe F und G den extensiveren Masttyp „JA 957“ und die Betriebe H und I von den „Siebenbürgen Nackthals“ abstammende Freiland-Mastpoulets der Rasse „Sasso“ eingestallt.

Weitere Daten zu den einzelnen Betrieben, zu den beprobten Mastumgängen und zum *Campylobacter*-Status vorangehender Mastumgänge sind in den Tabellen 2 und 3 zusammengefasst.

4.2 Probenentnahme

Jeder Mastumgang wurde in den ersten zwei Mastwochen einmal wöchentlich, ab der dritten Mastwoche zweimal wöchentlich beprobt. Die letzte Beprobung wurde jeweils auf den Tag vor der Schlachtung festgelegt. Die Proben wurden innert zwei Stunden nach Probenentnahme im Labor weiterverarbeitet.

Folgende Materialien oder Gegenstände wurden untersucht:

- Mekonium
- frischer Kot
- Einstreu
- Trinkwasser
- Futter
- Lüftungsschacht (wo zugänglich) oder Fenster
- Boden, Ablagefläche und Trogablauf im Vorraum
- Boden und Einstreu im Wintergarten
- Kloakentupfer bei Schlachtung
- vereinzelt Ungeziefer

Bei jeder Beprobung (römische Zahlen) wurden total 30 Proben (arabische Zahlen) entnommen, bei der jeweils letzten Beprobung pro Mastumgang ergab sich wegen der zusätzlichen Futterproben (6F, 10F, 21F und 26F) ein Total von 34 Proben. Davon entfielen in den BTS-Betrieben A bis E und in den Freilandbetrieben mit geschlossenem Auslauf (F und G) 19 auf Kotproben in der Masthalle und Kot- oder Oberflächenproben im Wintergarten, 6 auf den Vorraum, 3 auf das Trinkwasser und je 1 auf die Einstreu und auf das Lüftungssystem (Abbildungen 4 bis 9). In den Freilandbetrieben H und I standen 11 Kotproben in der Masthalle und Kot- oder Oberflächenproben im Wintergarten 9 Kot- oder Bodenproben im Freiland gegenüber; ferner entstammten hier 6 Proben dem Vorraum, 2 dem Trinkwasser und je 1 der Einstreu und dem Ungeziefer (Abbildungen 10 und 11). Im ganzen ergaben sich 4112 Proben, die im Rahmen dieser Arbeit erhoben wurden.

Bei Küken aus eigenen, schweizerischen Brütereien wurden noch in der Brütereier 15 Mekoniumproben entnommen und als Poolprobe untersucht. Bei

Importküken wurde das Mekonium bei 15 frisch eingestellten Küken abgepresst.

Für die Kotproben wurde auf die Entnahme von ausschliesslich frischem Kot, wenn immer möglich sogar frischem Blinddarmkot (fresh cecal dropping) geachtet. Die Kotproben wurden mit sterilen Wattetupfern entnommen (Transwab, MW170, Medical Wire & Equipment Co. Ltd., Corsham, Wiltshire, UK) und im mitgelieferten Transportmedium bis zur Verarbeitung im Labor aufbewahrt.

Bei jeder Beprobung wurde 1 g Einstreu aus der Masthalle untersucht. Ferner wurden jedesmal an drei resp. zwei Wasserlinien Trinkwasserproben entnommen, und zwar jeweils 1 ml am hintersten Tränkenippel einer Linie. Bei der letzten Beprobung eines Mastunganges wurde viermal 1 g Futter untersucht. Eine Probe stammte aus dem Futtervorbehälter im Vorraum (sofern vorhanden), die anderen drei von drei verschiedenen Futterlinien in der Masthalle.

Für sämtliche Proben von trockenen Oberflächen wie Boden, Tisch und Fenster wurden die Wattetupfer vor der Probenentnahme mindestens 20 Sekunden lang in steriler 0.85% NaCl-Lösung benetzt. Daraufhin wurde eine Fläche von 10 x 10 cm mäanderförmig abgestrichen. Auf diese Weise erfolgten alle Probenentnahmen im Vorraum - mit Ausnahme des ohnehin nassen Trogablaufs - sowie die Probenentnahmen im Wintergarten, solange sich noch keine Tiere darin aufgehalten hatten. Sobald der Wintergarten den Mastpoulets zur Verfügung stand, wurden dort ebenfalls frische Kotproben entnommen.

Im Schlachthof wurden bei jeder Herde zehn Kloakentupferproben entnommen.

Wo Insekten, Spinnen, Regenwürmer und ähnliche Kleinlebewesen gesichtet und auch gefangen werden konnten, wurden diese in sterile Röhrchen verpackt und analog den übrigen Proben weiterverarbeitet.

4.3 Grundrisse der Pouletmastställe und Verteilung der Probenentnahmestellen

Die Grundrisse der Pouletmastställe unterscheiden sich hauptsächlich durch ihre Grösse und durch die Lage des Vorraums relativ zur Masthalle (Abbildungen 4 bis 11). Die den Tieren zur Verfügung stehende Fläche allein in der Halle beträgt in den Betrieben A bis E 550 m², im Betrieb F 350 m², im Betrieb G 900 m² und in den Betrieben H und I 275 m². Die Freilandbetriebe H und I haben ferner die Auflage, dass die Fläche des Wintergartens 40 Prozent der Masthallenfläche betragen und der Auslauf pro Poulet 1 m² Platz bieten muss. Während in den Betrieben C, D und F der Vorraum in der Masthalle integriert ist, liegt er in den Betrieben A, B, E, G, H und I ausserhalb. Die Vorräume wiederum unterscheiden sich hauptsächlich in der Grösse des Schwarz- resp. Weissbereiches voneinander und damit in der Lage der Hygienebarriere. Die Betriebe A bis D, H und I haben direkt nach der Eingangstüre von aussen in den Vorraum einen Schwarzbereich mit Holzbalken abgetrennt. Die Balken zu überschreiten bedeutet Schuhwechsel und –desinfektion im Fussbad. Der restliche Vorraum gehört wie auch die Masthalle zum weissen Bereich. Auf den Betrieben E bis G ist der gesamte Vorraum „schwarz“ und wird mit den gewöhnlichen Strassentiefeln betreten. Die Hygienebarriere ist zwischen Vorraum und Masthalle geschaltet, indem entweder ein Schwarzbereich mit Fussbad abgetrennt ist (F und G) oder nur eine grosse Desinfektionswanne vor der Eingangstür zur Masthalle steht (E).

Je nach Topographie der Stallumgebung verfügen die Ställe über ein bis zwei Fahrtore, die von der Masthalle direkt nach draussen führen. Diese Tore bleiben in der Regel geschlossen, solange sich Hühner in der Masthalle befinden. Eine Ausnahme bildete dabei die Kombimast im Betrieb G, wo ein Teil der Herde ausgestellt und durch diese Masthallenzugänge für den Weitertransport verladen wurde, während die restlichen Tiere in der Masthalle verblieben.

Alle Ställe haben auf ihrer Südseite einen Wintergarten angebaut, Stall C verfügt zusätzlich nordseits über einen zweiten, etwas kleineren Wintergarten.

Die Betriebe F bis I sind Freilandbetriebe, bei denen der Auslauf an den Wintergarten anschliesst.

Die genauen Entnahmestellen aller Proben sind in den Abbildungen 4 bis 11 für jeden Betrieb im Detail dargestellt. Ziel dieser exakten Protokollierung war es, eine Übersicht über die räumliche Verteilung der verschiedenen *Campylobacter*-Stämme zu erhalten. Ausgehend vom Grundriss der jeweiligen Masthalle wurden die Probenentnahmestellen einerseits möglichst gleichmässig verteilt, andererseits wurden potentielle Eintrittspforten (Eintrag von *Campylobacter* von aussen in den Stall) wie die Eingangstüre, Fahrtore und Durchgänge zum Wintergarten besonders berücksichtigt und schwerpunktmässig beprobt. Um bei der Beprobung der sehr unterschiedlich eingerichteten Vorräume eine sinnvolle Verteilung der Probenentnahmestellen zu erhalten, wurde die Probe Nummer drei teils im weissen Bereich (Betriebe A bis C), teils im schwarzen Bereich (Betriebe D bis I) entnommen. Die Wintergärten wurden immer beprobt, egal ob sie für die betreffende Herde bereits zugänglich gewesen waren oder nicht. Da die Beprobung des Freilandbetriebes F im Winter stattfand, die ganze Zeit über Schnee lag und sich somit keine Tiere im Auslauf aufhielten, wurde auf die Probenentnahme im Auslauf verzichtet; ebenso im Freilandbetrieb G, dort allerdings deshalb, weil der Stall ein Neubau war und der Auslauf im Winter nicht angesät und somit nicht fertiggestellt werden konnte.

4.4 Kultureller Nachweis von *Campylobacter* spp.

Die Isolierung von *Campylobacter* spp. aus den gesammelten Proben verlief über ein einstufiges Anreicherungsverfahren. Die entnommenen Tupferproben wurden einzeln in je 10 ml *Campylobacter* Selective Broth (CSB, Difco 0495-17-3, Becton Dickinson, Sparks, USA) mit *Campylobacter*-Anreicherungs-Supplement (Oxoid SR84, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) und Skirrow *Campylobacter*-Selectiv-Supplement (Oxoid SR69, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) angereichert. Von den Wasserproben wurde je 1 ml zu 9 ml *Campylobacter* Selective Broth (CSB, Difco 0495-17-3, Becton Dickinson, Sparks, USA) mit *Campylobacter*-Anreicherungs-Supplement (Oxoid SR84, Oxoid Ltd.,

Hampshire, UK) und Skirrow Campylobacter-Selectiv-Supplement (Oxoid SR69, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) hinzugefügt. Einstreu- und Futterproben wurden jeweils im Gewichtsverhältnis 1:10 mit Campylobacter Selective Broth (CSB, Difco 0495-17-3, Becton Dickinson, Sparks, USA) mit Campylobacter-Anreicherungs-Supplement (Oxoid SR84, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) und Skirrow Campylobacter-Selectiv-Supplement (Oxoid SR69, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) in einem Stomacherbeutel (Model 400, 6041/5, Seward Ltd., London, UK) im Stomachergerät (Stomacher Lab Blender 400 BA 7021, Seward Ltd., London, UK) während 60 Sekunden gemischt. Von dieser Suspension wurden je 10 ml angereichert. Alle Röhrchen dieser ersten Anreicherungsstufe wurden bei einer Temperatur von 42 °C während 48 h in mikroaerophilem Klima inkubiert (CampyPack Plus, BBL 271045, Becton Dickinson, Cockeysville, USA).

Anschließend wurden die Anreicherungskulturen mit sterilen Einweg-Plastikösen (731170, Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, A) auf Campylobacter Selective Agar (CSA, Difco 0964-17-5, Becton Dickinson, Sparks, USA) mit lysiertem Pferdeblut (Oxoid SR48, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) und Butzler Campylobacter-Selektiv-Supplement (Oxoid SR85, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) dreifach fraktioniert ausgestrichen und erneut bei einer Temperatur von 42 °C während 48 h bei mikroaerophilen Bedingungen inkubiert.

4.5 Keimidentifikation

Campylobacter-verdächtige Kolonien (flache, hellgrau glänzende, geruchlose, sich ausbreitende Kolonien ohne Hämolyse) wurden zuerst auf Campylobacter Selective Agar (CSA, Difco 0964-17-5, Becton Dickinson, Sparks, USA) unter den oben genannten Bedingungen subkultiviert. Von den Subkulturen wurde eine Gram-Färbung, ein Oxidase- (1%ige wässrige Tetramethyl-p-Phenylendiamindichlorid-Lösung, 87890, Fluka Chemie AG, Buchs, CH) und ein Katalase-Test (3%ige wässrige Lösung H₂O₂, 1.07209, Merck KGaA, Darmstadt, D) durchgeführt. *Campylobacter* spp. sind Gram-negative,

gewundene, kommaförmige Stäbchen, die Oxidase- und Katalase-positiv sind (SVARM 2002).

Aufgrund der intrinsischen Cephalothin-Resistenz von *Campylobacter* spp. konnte ferner die im Rahmen der Phänotypisierung durchgeführte Resistenzprüfung gegen Cephalothin als weiteres Mittel zur Keimidentifikation herangezogen werden (Kapitel 4.6) (Pezzotti et al., 2003; Tjaniadi et al., 2003).

Bei *Campylobacter* spp.-positivem Resultat wurde des weiteren ein Hippurat-Test durchgeführt. Dazu wurden dem Hippurat-Medium, bestehend aus 0.5 g Hippurat-Säure Natriumsalz (820648, Merck KGaA, Darmstadt, D) und 50 ml 0.85% NaCl, einige verdächtige Kolonien der Subkultur zugesetzt, und das Teströhrchen anschliessend für 24 h bei einer Temperatur von 37 °C inkubiert. Danach wurden jeweils 4 Tropfen NIN (Ninhydrin 2-Methoxyethanol, BioMérieux, Marcy l'Etoile, F) zugesetzt und nach erneuter Inkubation (37 °C, 20 min.) die Farbreaktion beurteilt. Ein Farbumschlag des Hippurat-Mediums nach blau sprach dabei für eine positive Reaktion. *C. jejuni* reagiert im Hippurat-Test positiv, *C. coli* hingegen negativ.

4.6 Phänotypisierung

Zur weitergehenden phänotypischen Charakterisierung der *Campylobacter*-Stämme wurden mittels Plättchen-Agardiffusionsmethode Antibiotika-Resistenzprofile erstellt. Dieses Verfahren zur Resistenzprüfung entspricht dem standardisierten, qualitativen Agardiffusionstest nach Anleitung des National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) mit auf Agar aufgelegten Antibiotika-imprägnierten Testplättchen und stellt gemäss Gaudreau et al. eine verlässliche, einfache und kostengünstige Methode zur Resistenzprüfung bei *C. jejuni* und *C. coli* dar (Gaudreau et al., 1997; NCCLS, 1999).

Vier bis fünf Kolonien einer frischen Subkultur wurden in 5 ml Trypticase Soy Broth (TSB; BBL 11768, Becton Dickinson, Sparks, USA) bei einer Temperatur von 37 °C während 24 Stunden angereichert. Mit einem sterilen Tupfer

(Paddle Applicator Sterile, 421180, Greiner Bio-One, St. Gallen, CH) wurden dann pro Probe drei Müller-Hinton Agarplatten (Oxoid CM 337, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) mit Schafblut (5% Schafblut defibrilliert steril, Oxoid Ltd., Hampshire, UK) mit der Bakteriensuspension flächenhaft gemäss NCCLS-Standard beimpft. Die geschlossenen Platten blieben zum Antrocknen der aufgetragenen Suspension 5 Minuten bei Raumtemperatur stehen.

Anschliessend wurden mittels einer sterilen Pinzette die nachfolgend aufgeführten Antibiotika-Plättchen (Sensi-Disc®-Testplättchen, Becton Dickinson, Sparks, USA) auf den Agarplatten verteilt:

Amoxycillin (25 µg), Ampicillin (10 µg), Cephalothin (30 µg), Chloramphenicol (30 µg), Ciprofloxacin (5 µg), Erythromycin (15 µg), Gentamicin (10 µg), Streptomycin (10 µg) und Tetracyclin (30 µg).

Nach Inkubation bei einer Temperatur von 42 °C während 48 h unter mikroaerophilen Verhältnissen (CampyPack Plus, BBL 271045, Becton Dickinson, Cockeysville, USA) wurde der Test abgelesen. Als Bewertungsgrundlage dienten die Durchmesser der um die Testplättchen aufgrund fehlenden Bakterienwachstums sichtbaren Hemmhöfe. Es wurden die Hemmhofdurchmesser (in mm) gemessen und mittels Beurteilungskriterien gemäss NCCLS-Standard bewertet (NCCLS 1999, Tabelle 4).

4.7 Genotypisierung

Die weitergehende genotypische Charakterisierung der *Campylobacter*-Stämme erfolgte mittels zweier verschiedener Methoden: einer Restriktionsanalyse des Flagellin-Gens *flaA* (*fla*-typing) und einer Makrorestriktion des gesamten Genoms mit anschliessender Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE).

4.7.1 *fla*-typing

Die Methode des *fla*-typings basiert auf einer Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus-Analyse (RFLP) des Flagellin-Gens *flaA* und wurde wie in der

Tabelle 4: Beurteilung der Hemmhof-Durchmesser im Agardiffusionstest gemäss NCCLS (NCCLS 1999)

Antibiotikum	Hemmhof-Durchmesser (mm)	
	R	E
Amoxycillin (25 µg)	≤ 13	≥ 18
Ampicillin (10 µg)	≤ 13	≥ 17
Cephalothin (30 µg)	≤ 14	≥ 18
Chloramphenicol (30 µg)	≤ 12	≥ 18
Ciprofloxacin (5 µg)	≤ 15	≥ 21
Erythromycin (15 µg)	≤ 13	≥ 23
Gentamicin (10 µg)	≤ 12	≥ 15
Streptomycin (10 µg)	≤ 11	≥ 15
Tetracyclin (30 µg)	≤ 14	≥ 19

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

E: empfindlich, R: resistent

Plättchendurchmesser = 6 mm

Literatur beschrieben durchgeführt (Nachamkin et al., 1996; CAMPYNET). Sie beinhaltet im ersten Schritt die Amplifikation des gesamten *flaA*-Gens (1725 bp) in einer PCR mit dem Primerpaar A1 (vorwärts, 5'-GGA TTT CGT ATT AAC ACA AAT GGT GC-3') und A2 (rückwärts, 5'-CTG TAG TAA TCT TAA AAC ATT TTG-3') (Microsynth, Balgach, CH). Das PCR-Produkt wurde mit der Restriktions-Endonuklease *DdeI* (5'-C↓TNAG-3') (Roche Diagnostics AG, Rotkreuz, CH) verdaut und die Fragmente anschliessend mittels Agarosegelelektrophorese aufgetrennt.

4.7.2 PFGE

Das Prinzip der Pulsfeld-Gelelektrophorese-Technik besteht darin, dass während der Elektrophorese die Richtung des angelegten elektrischen Feldes innerhalb eines definierten Winkels alternierend geändert wird und es daher möglich ist, Nukleinsäurefragmente im Grössenbereich chromosomaler DNA (bis 20'000 kbp) aufzutrennen, während dies bei der konventionellen Gelelektrophorese mit konstanten Feldern bei Molekülen > 30 kbp nicht mehr möglich ist. Im hier verwendeten PFGE-Modell „CHEF“ (contour-clamped homogeneous electric field) alterniert das Spannungsfeld zwischen zwei 120° auseinanderliegenden Positionen, so dass die DNA fortwährend ihre Laufrichtung ändert, wobei sich kleinere Moleküle im Gel agiler verhalten als grössere und daher schneller vorwärts laufen als jene (Chu et al., 1986).

Die Durchführung der PFGE erfolgte gemäss dem einfachen, schnellen, robusten und reproduzierbaren PulseNet-Protokoll zur molekularen Subtypisierung von *C. jejuni* (Owen et al., 1995; Ribot et al., 2001; CDC, Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA). Dabei wurde nach Aufschluss der Zellen und Extraktion der gesamten chromosomalen DNA zuerst die Makrorestriktion durchgeführt, wobei die DNA mit der selten schneidenden Restriktions-Endonuklease *Sma*I (5'-CCC↓GGG-3') (Roche Diagnostics AG, Rotkreuz, CH) verdaut wurde. Die Restriktionsfragmente wurden danach mittels PFGE (CHEF-DR III, Bio-Rad Laboratories, Richmond, USA) aufgetrennt. Die Elektrophorese-Bedingungen sind in Tabelle 5 ersichtlich.

Tabelle 5: Laufprogramm PFGE

Pulszeiten	6.75 s / 38.4 s
Laufzeit	19 h
Spannung	6 V/cm
Winkel	120°
Temperatur	10 °C

4.8 Statistik

Zur Beurteilung der unterschiedlichen *Campylobacter*-Prävalenzen in den einzelnen Lokalisationen der Pouletmastbetriebe (Masthalle, Wintergarten und Freiland) wurde der z-Test für ungepaarte Stichproben verwendet, wobei innerhalb der BTS- und Freilandbetriebe jeweils die Prävalenz über alle Betriebe (BTS: $n = 3$; Freiland: $n = 2$) von Interesse war. Um zunächst die Approximation mit der Normalverteilung abzuklären, wurde folgendes Kriterium bezüglich n (Stichprobenumfang) und p (Prävalenz) überprüft:

$$np(1 - p) \geq 10$$

War das Kriterium erfüllt, wurde die zweiseitige Alternativhypothese mit folgender z-Teststatistik überprüft:

$$z = \frac{p_1 - p_2}{\sqrt{\frac{p_1(1 - p_1)}{n_1} + \frac{p_2(1 - p_2)}{n_2}}}$$

Wegen der zweiseitigen Hypothese lag für $\alpha = 0.05$ die kritische Grenze der Normalverteilung bei $z_{0.0975} = 1.960$. Die Nullhypothese wurde verworfen, wenn der beobachtete z-Wert grösser als diese Grenze war.

Für Vergleiche mit Lokalisationen, welche obiges Kriterium wegen zu kleinem Stichprobenumfang nicht erfüllten, wurde der exakte Test von Fisher verwendet mit $p = 0.05$ (StatView 4.02).

Die Antibiotika-Resistenzprofile wurden als Boxplots mit 10%-, 25%-Quantile, Median, 75%-, 90%-Quantile und Extremwerte dargestellt (SAS JMP 5.0.1.2).

5 Ergebnisse

5.1 Keimidentifikation

Alle *Campylobacter*-verdächtigen Kolonien wurden aufgrund Gram-negativer Färbung, Stäbchenform, positiver Oxidase- und Katalase-Reaktion und Cephalothin-Resistenz als *Campylobacter* spp. identifiziert. Durch die Blauverfärbung in der Hippurat-Hydrolyse erwiesen sich alle Stämme eindeutig als *C. jejuni*.

5.2 Prävalenzen

Von den insgesamt 4112 erhobenen Proben aus 14 Mastpouletherden waren 157 Proben (3.8%) aus fünf Herden *Campylobacter*-positiv. Im Schlachthof wurden dieselben fünf Herden positiv auf *C. jejuni* getestet, die anderen neun Herden blieben auch bei Schlachtung negativ. Die positiven Proben verteilten sich auf drei der insgesamt zehn beprobten BTS-Herden (Betriebe A, B und C) und zwei der vier Freiland-Herden (Betriebe H und I). Alle positiven Proben wurden in den Monaten Juni und Juli 2004 gesammelt. Die Kolonisation der Herde erfolgte jeweils in der fünften bis siebten Mastwoche und liess sich bis zum Zeitpunkt der Schlachtung weiterverfolgen (Abbildung 12).

Betrieb A

Nachdem die erste beprobte Mastpouletherde *Campylobacter*-negativ war, wurden in der zweiten beprobten Herde bei der letzten Probenentnahme (IX) *Campylobacter* spp. gefunden. Alle positiven Proben waren Kotproben und verteilten sich mehrheitlich auf den Wintergarten und den direkt angrenzenden Teil der Masthalle (Abbildung 13).

Betrieb B

Während die erste beprobte Mastpouletherde *Campylobacter*-negativ war, wurden in der zweiten beprobten Herde bei den letzten drei Probenentnahmen (VII – IX) *Campylobacter* spp. gefunden. Waren anfangs Kotproben vorwiegend aus dem Wintergarten und angrenzenden Teilen der Masthalle positiv, wurden ab der Probenentnahme VIII in der ganzen

Masthalle verteilt positive Kotproben und je eine positive Einstreu- und Trinkwasserprobe gefunden (Abbildung 14).

Betrieb C

Auch in diesem Betrieb war die erste beprobte Mastpouletherde *Campylobacter*-negativ, während in der zweiten beprobten Herde bei der letzten Probenentnahme (IX) *Campylobacter* spp. gefunden wurde. Die Umgebungsprobe vor der Eingangstüre und vier Kotproben in der vorderen Hälfte der Masthalle waren positiv (Abbildung 15).

Betrieb H

Die beprobte Freilandherde wurde ab der achten Probenentnahme (VIII – XIV) positiv auf *Campylobacter* spp. getestet. Bei der ersten positiven Beprobung waren die Umgebungsprobe vor der Eingangstüre, eine Bodenprobe im schwarzen Bereich des Vorraumes und ein am selben Ort liegender, toter Hundertfüßler (*Lithobius* spp.) positiv, ferner alle Kotproben aus dem Freiland und fast alle Kotproben aus dem Wintergarten und der Masthalle. Später stellten sich ein Grossteil der Kotproben in der Masthalle sowie eine Umgebungsprobe vor der Eingangstüre und eine Trinkwasserprobe als positiv heraus (Abbildung 16).

Betrieb I

Ab der elften Probenentnahme (XI – XIV) wurde die beprobte Freilandherde positiv auf *Campylobacter* spp. getestet. Alle positiven Proben waren Kotproben, die zumeist aus der Masthalle stammten (Abbildung 17).

Prävalenzen in unterschiedlichen Kompartimenten

Die Prävalenzen von *Campylobacter* spp. in den verschiedenen Kompartimenten von BTS- und Freiland-Betrieben sind den Abbildungen 18 und 19 zu entnehmen. Diejenigen Kompartimente, in denen Kotproben gesammelt wurden (Masthalle, Wintergarten und Freiland), zeigten die höchsten Prävalenzen. Während der Unterschied der Prävalenzen von Masthalle und Wintergarten in den BTS-Betrieben nicht signifikant war ($p > 0.05$), unterschieden sich in den Freiland-Betrieben die Prävalenzen von

Masthalle und Wintergarten ($z = 2.418$), Wintergarten und Freiland ($z = 2.148$) und Masthalle und Freiland ($z = 6.877$) signifikant voneinander. In den Masthallen von Freiland-Betrieben wurde signifikant mehr *Campylobacter* spp. gefunden als in den Masthallen von BTS-Betrieben ($z = 3.536$). Die Prävalenzen in den Wintergärten der beiden Betriebsarten zeigten keinen signifikanten Unterschied ($p > 0.05$).

5.3 Phänotypisierung

Zur weitergehenden phänotypischen Charakterisierung wurden alle 157 *Campylobacter*-Stämme im Plättchen-Agardiffusionstest auf ihre Empfindlichkeit gegenüber neun Antibiotika getestet. Die Antibiotika-Resistenzprofile für alle fünf *Campylobacter*-positiv getesteten Betriebe sind in den Abbildungen 20a bis h ersichtlich.

Abgesehen von der intrinsischen Resistenz gegen Cephalothin wurden gemäss den Beurteilungskriterien in Tabelle 4 bei 36.9% der *Campylobacter*-Stämme und in vier von fünf Betrieben Resistenzen gefunden. Es traten nur Resistenzen gegen Ampicillin und Ciprofloxacin auf; gegen Amoxicillin, Chloramphenicol, Erythromycin, Gentamicin, Streptomycin und Tetracyclin konnten keine Resistenzen nachgewiesen werden. Die resistenten Stämme wiesen jeweils nur Resistenz gegen eines der beiden Antibiotika auf. Fünfundvierzig Stämme (28.7%) zeigten Resistenz gegen Ampicillin; sie wurden im BTS-Betrieb B und in den beiden Freiland-Betrieben H und I gesammelt. Die 13 Ciprofloxacin-resistenten Stämme (8.3%) stammten alle aus dem BTS-Betrieb A.

Während im BTS-Betrieb A ($n = 13$) alle *Campylobacter*-Stämme (100%) Ciprofloxacin-resistent waren, zeigten im BTS-Betrieb B zwei von 28 Stämmen (7.1%) Ampicillin-Resistenz. Im BTS-Betrieb C ($n = 5$) wurden keine Resistenzen gefunden. Im Freiland-Betrieb H ($n = 81$) wiesen 41 Stämme (50.6%) Resistenz gegen Ampicillin auf, im Freiland-Betrieb I ($n = 30$) waren es deren zwei (6.7%).

5.4 Genotypisierung

Im Rahmen der genotypischen Charakterisierung wurde einerseits eine RFLP-Analyse (*fla*-typing) mit dem Primerpaar A1/A2 und dem Enzym *Dde*I, andererseits eine PFGE mit *Sma*I durchgeführt. Von den 157 *Campylobacter*-Stämmen erwiesen sich 135 als mit beiden Verfahren genotypisierbar.

Die fünf RFLP-Typen A, B, C, D und E (Abbildung 21) und die sechs PFGE-Typen a, b, c, d, e und f (Abbildung 22) traten in fünf verschiedenen Kombinationen auf. Diese fünf Genotypen verteilten sich sehr homogen auf die vier Betriebe A, B, H und I (Tabelle 6). Alle Stämme aus dem Betrieb C (n = 5) gehörten zum PFGE-Typ d, erwiesen sich aber mit RFLP als nicht typisierbar.

Tabelle 6: Verteilung der 135 mittels *fla*-typing und PFGE genotypisierbaren Stämme auf die Betriebe

Betrieb	Anzahl Stämme	Genotyp	
		<i>fla</i> -typing	PFGE
A	12	C	a
B	27	D	b
H	70	A	c
H	1	E	e
I	25	B	f

In den Betrieben A, B und I wurde je ein Genotyp gefunden; diese Genotypen waren voneinander verschieden. Im Betrieb H wurde während sechs Probenentnahmen im Zeitraum von drei Wochen stets derselbe Genotyp (Ac) gefunden; erst bei der siebten positiv getesteten und letzten Probenentnahme

kam in einer einzigen Probe ein neuer Genotyp (Ee) hinzu (Probe-Nr. H-XIV-30, Abbildung 16).

Fünf Herden wurden auch im Schlachthof *Campylobacter*-positiv getestet. Die Stämme der Herden aus den Betrieben A, C und H konnten keinem Genotyp zugewiesen werden, da sie entweder nicht mit beiden Methoden genotypisierbar waren oder für die Genotypisierung nicht mehr zur Verfügung standen. Bei den Herden aus den Betrieben B und I hingegen wurde im Schlachthof derselbe Genotyp gefunden (Db resp. Bf) wie zuvor im Pouletmastbetrieb.

6 Diskussion

6.1 Prävalenzen

Die 14 beprobten Mastpouletherden wurden im Zeitraum zwischen Oktober 2003 und Juli 2004 geschlachtet. Obwohl man in der Schweiz im Herbst bis im November mit einer Prävalenz *Campylobacter*-positiver BTS-Herden bei Schlachtung von rund 50% rechnen kann (persönliche Angaben der Geflügelindustrie), blieben alle neun zwischen Oktober 2003 und Anfang Juni 2004 geschlachteten Herden negativ (Abbildung 12). Dabei erstaunt insbesondere das durchgehend negative Ergebnis für die fünf BTS-Betriebe A bis E im Herbst 2003.

Sowohl der fehlende *Campylobacter*-Nachweis in den Betrieben F und G im Winter 2003/2004 als auch das Auftreten der fünf positiv getesteten Herden A, B, C, H und I in den Frühsommer-Monaten Juni und Juli 2004 entspricht der allgemein beobachteten Saisonalität von *Campylobacter* spp. (Hänninen et al., 2000; Wedderkopp et al., 2001; Bouwknecht et al., 2004).

Die *Campylobacter*-Kolonisation der positiv getesteten Herden erfolgte nur bei einer Herde in der fünften Mastwoche und damit im in der Literatur beschriebenen Zeitraum zwischen der zweiten und fünften Woche (Evans, 1992; Jacobs-Reitsma et al., 1995; Berndtson et al., 1996b). Die anderen vier Herden wurden erst in der sechsten oder siebten Mastwoche und damit überraschend spät kolonisiert.

Unveröffentlichte Zahlen aus der Geflügelindustrie zeigen in der Schweiz einen sinkenden Trend bezüglich *Campylobacter*-Prävalenz bei Mastpouletherden auf: Wurden in einem der grossen Geflügelschlachthöfe im Jahre 2001 noch 61% der BTS-Herden bei Schlachtung positiv getestet, waren es im Jahre 2002 noch 52% und 2003 nur noch 45%. Dies geht mit der Entwicklung der humanen *Campylobacter*iosefälle in der Schweiz und analogen Daten aus dem Ausland einher (Abbildung 1) (Stern et al., 2003; Nannapaneni et al., 91st Annual Meeting of the International Association for Food Protection, Phoenix, Arizona, 2004). Mit fünf positiven von 14 in der hier

vorliegenden Studie getesteten Herden darf gehofft werden, dass sich der sinkende Trend in der Schweiz im Jahre 2004 fortsetzt. Dennoch liegt die schweizerische Prävalenzsituation erst im europäischen Mittel und muss aus lebensmittelhygienischer Sicht ernst genommen werden (Tabelle 1).

Betrieb A

In diesem Betrieb zeigen die *Campylobacter*-positiven Proben eine auffällige Verteilung: alle drei Proben aus dem Wintergarten und sechs von sieben direkt angrenzend entnommenen Proben sind positiv (Abbildung 13). Im Überblick kann von oben links nach unten rechts eine Diagonale durch die Masthalle gezogen werden mit der positiv beprobten Hälfte auf der Seite des Wintergartens. Betrachtet man diese einseitige Verteilung des Keimes in der Herde, so muss der Wintergarten als Eintrittspforte für die *Campylobacter*-Besiedlung angenommen werden.

Leider war nur die letzte Beprobung vor der Schlachtung positiv; daher kann bloss eine Momentaufnahme beurteilt werden. Die vorherige, negative Beprobung lag drei Tage zurück. Es ist also anzunehmen, dass der Kolonisationszeitpunkt der Herde noch nicht allzu lange her war.

Betrieb B

Die Verteilung der positiven Proben im Betrieb B bei Beprobung VII ist nicht ganz so eindeutig wie im Betrieb A, weist aber dieselbe Tendenz auf: *Campylobacter* wurde vor allem im Wintergarten und in den angrenzenden Teilen der Masthalle gefunden (Abbildung 14). Auch hier ist demnach ein Eintrag des Keimes von aussen über den Wintergarten in die Masthalle wahrscheinlich. Das undeutlichere Bild lässt sich möglicherweise damit begründen, dass die vorherige Beprobung bereits fünf Tage her und die Besiedlung der Herde schon weiter fortgeschritten war als im Betrieb A. Bei der Beprobung VIII zwei Tage später war denn auch ein weit verbreiteter Teil der Herde positiv, und bei Beprobung IX konnte der Keim in der ganzen Halle verteilt nachgewiesen werden. Interessanterweise waren die Proben aus dem Wintergarten ab der zweiten positiven Probenentnahme wieder mehrheitlich negativ, was auf eine Kolonisation der Herde in Form eines einmaligen

Ereignisses schliessen lässt und nicht auf einen langanhaltenden Eintrag des Keimes von aussen.

Auffällig ist auch die Reduktion der Anzahl positiver Kotproben in der Masthalle zwischen den Beprobungen VIII und IX auf weniger als die Hälfte. Es wäre spannend gewesen zu erfahren, ob dies zufällig war oder sich in einer weiteren Beprobung bestätigt hätte. Der Schlachttermin liess dies leider nicht mehr zu.

In diesem Betrieb wurden neben Kotproben auch eine Streu- und eine Wasserprobe positiv getestet. Das vereinzelte Auftreten und der Zeitpunkt lassen darauf schliessen, dass es sich in beiden Fällen um Kontaminationen mit Hühnerkot handelte.

Betrieb C

Der dritte der BTS-Betriebe weist gegenüber den vorherigen beiden ein ganz anderes Verteilungsmuster auf. Als Spezialität besitzt dieser Betrieb zwei kleinere Wintergärten, die auch für die Hühner nur aus dem hinteren Teil der Masthalle zugänglich sind. In der ganzen hinteren Hälfte wurden aber keine *Campylobacter* gefunden, ebenso wenig in den Wintergärten (Abbildung 15). Positiv waren nur Kotproben in der vorderen Hallenhälfte und eine auf der Fussmatte vor der Eingangstüre entnommene Probe, auf der Verunreinigungen mit Rinderkot beobachtet wurden. Trotz des fehlenden Nachweises von *Campylobacter* im Vorraum liegt die Vermutung nahe, dass die Eingangstüre als Eintrittspforte für den Keim diene, allenfalls aber auch das Fahrtor auf der rechten Seite der Halle, obwohl es während der Mast stets geschlossen blieb.

Die vorgängige Beprobung in diesem Betrieb lag fast eine Woche zurück. Nichts desto trotz weist das spärliche Vorkommen von *Campylobacter* am Halleneingang eher auf einen erst kürzlich erfolgten Eintrag des Keimes in die Herde hin.

Betrieb H

Im Freiland-Betrieb H liess sich die Dynamik der *Campylobacter*-Besiedlung einer Pouletherde am längsten mitverfolgen, nämlich über sieben Beprobungen im Zeitraum von drei Wochen (Abbildung 16).

Die letzte negative Beprobung dieser Herde lag sechs Tage hinter dem Erstaufkommen von *Campylobacter* zurück, so dass der Keim Zeit hatte, sich in der ganzen Herde inklusive der ganzen Masthalle auszubreiten. Die erste positive Beprobung lieferte entsprechend für 18 der 20 entnommenen Kotproben ein positives Ergebnis. In der nächsten Beprobung zwei Tage später wurde *Campylobacter* nur noch in halb so vielen Kotproben nachgewiesen. Diese mittelhohe Nachweisrate hielt sich bis zur Schlachtung auf etwa demselben Niveau und könnte Ausdruck der in der Literatur beschriebenen Selbstlimitierung der *C. jejuni*-Besiedlung bei Mastpoulets sein (Cawthraw et al., 1994; Achen et al., 1998).

Bei differenzierterer Betrachtung fällt auf, dass insbesondere Kot aus der Masthalle weiterhin positiv getestet wurde, wohingegen der ebenfalls stets frische Kot aus dem Freiland zumeist negativ blieb. Die Nachweisrate im Wintergarten lag dazwischen mit je etwa der Hälfte positiver und negativer Kotproben. Die Begründung für dieses eindrückliche Besiedlungsmuster muss wohl in der geringen Tenazität von *Campylobacter* gesucht werden. Trotz sorgfältiger Probenentnahme liess sich nicht verhindern, dass die Bakterien im Hühnerkot im Freiland eine gewisse Zeit den Umweltbedingungen und Witterungseinflüssen wie Temperaturschwankungen, stärkerer Abtrocknung durch bewegte Luft und UV-Strahlung ausgesetzt waren. Damit liesse sich erklären, warum im Freiland nur vereinzelt, im Wintergarten regelmässig und in der Masthalle in den meisten Fällen *Campylobacter* im Hühnerkot nachgewiesen wurde (Abbildung 19).

Einen interessanten Aspekt liefert das Wetter in den Tagen um die ersten positiven Beprobungen herum. Bis zwei Tage vorher herrschte trockene Witterung. Am Vortag war es bereits wechselhaft, und der Tag der Beprobung VIII war der erste einer ganzen Reihe von Regentagen. Der von Anfang an

starke Regen füllte den Wasserablauf vor der Eingangstüre zeitweise randvoll auf und führte zum Eindringen von Wasser in den schwarzen Bereich des Vorraumes. Im Freiland-Gehege retteten sich von Tag zu Tag mehr Regenwürmer (*Lumbricus terrestris*) an die Bodenoberfläche, wobei die vermeintliche Rettung ein Trugschluss war, da sie innert kurzer Zeit von den Poulets aufgepickt und verschlungen wurden. Erst in den Tagen zwischen den Beprobungen IX und X hörte es auf zu regnen. Sobald der Boden einigermaßen abgetrocknet war, wurden auch keine Regenwürmer mehr im Auslauf gesichtet. Der Regen liefert ein feuchtes und damit geeignetes Milieu für *Campylobacter* in der Umgebung; ferner könnte man sich Regenwürmer als potentiell Reservoir für die Bakterien im Boden vorstellen, auch wenn die in dieser Studie beprobten Regenwürmer durchgehend negativ getestet wurden. Die Würmer werden von den Mastpoulets als willkommener Leckerbissen gefressen und stellen somit einen möglichen Vektor für *Campylobacter* dar. Nicht zu unterschätzen ist wohl auch die starke Bewölkung und damit geringere UV-Einstrahlung, was den Bakterien unter Umständen bei Regenwetter ein längeres Überleben unter freiem Himmel ermöglicht als an Schönwettertagen.

Im Ablaufkanal vor der Eingangstüre wurde bei den ersten beiden Beprobungen *Campylobacter* nachgewiesen, ebenso bei Beprobung VIII in einer Wasserlache im schwarzen Bereich des Vorraumes und in einem in der Lache liegenden, toten Hundertfüßler. Ob das Tierchen selbst oder nur das es umgebende Wasser positiv war, bleibt unklar.

Interessant ist, dass der restliche Vorraum stets *Campylobacter*-frei blieb. Das spricht dafür, dass die Hygienebarriere eingehalten wurde, ihren Nutzen erfüllt und kein *Campylobacter*-Eintrag über die Eingangstüre und den Vorraum in die Masthalle stattgefunden hat. Wegen der von Anfang an flächendeckend positiven Beprobung in dieser Herde bleibt die Eintrittspforte der Bakterien ungewiss. Der Eintrag aus dem Freiland in die Masthalle durch die Poulets selbst ist wohl der naheliegendste Weg. Wiederum lassen die vorliegenden Daten diesen Bakterieneintrag in die Herde als punktuell

Ereignis erscheinen, das sich in diesem Betrieb irgendwann zwischen den Beprobungen VII und VIII ereignet hat.

Die positiv getestete Trinkwasserprobe in der Beprobung X ist vermutlich aus den gleichen Gründen wie im Betrieb B als Kontamination des Tränkenippels mit Hühnerkot zu betrachten.

Betrieb I

Der zweite positiv getestete Freiland-Betrieb I zeigt ein komplett anderes Besiedlungsmuster als der Betrieb H (Abbildung 17). Die ersten positiven Kotproben traten nicht etwa im Freiland, sondern in der Masthalle auf. Zudem erstaunt die anfangs spärliche Positivitätsrate in der Herde: nur drei von acht Kotproben aus der Masthalle waren *Campylobacter*-positiv, alle in der vorderen Hälfte der Halle. Unter dem Aspekt, dass drei Tage zuvor die Herde noch negativ getestet und vier Tage nach der ersten positiven Beprobung die Bakterien über die ganze Herde verteilt nachgewiesen wurden, darf angenommen werden, dass die Beprobung XI den frühen Anfang der Herdenkolonisation mit *Campylobacter* widerspiegelt. Falls dem so ist, kommt nur die Eingangstür als Eintrittspforte in Frage; das bedeutet, dass die Bakterien die Hygienebarriere passiert haben.

Spätestens vier Tage nach dem *Campylobacter*-Eintrag in die Herde waren Kotproben aus allen Teilen des Betriebes positiv, auch aus dem Freiland. In der verbleibenden Woche vor dem Schlachtdatum nahm die Anzahl positiver Proben eher zu als ab, was den Beobachtungen im Betrieb H widerspricht. Die *Campylobacter*-Besiedlung dieser Herde dauerte allerdings insgesamt nur 11 Tage, so dass es schwierig ist, gesicherte Aussagen zu deren Verlauf zu machen.

Was auch in diesem Freiland-Betrieb auffällt, ist der häufigere *Campylobacter*-Nachweis in der Masthalle als im Freiland, wobei wiederum der Wintergarten – nicht nur örtlich betrachtet - dazwischen liegt (Abbildung 19).

Die beiden Freilandherden der Betriebe H und I wurden gleichentags ein- und auch ausgestallt. Interessanterweise führte die oben beschriebene

Regenperiode in der Herde des Betriebes I zu keiner Veränderung des *Campylobacter*-Status, obwohl auch dort der Auslauf mit Regenwürmern übersät war. Der Kolonisationsdruck aus der Umgebung war in diesem Betrieb offensichtlich geringer.

Prävalenzen in unterschiedlichen Kompartimenten

Die in den beiden Freiland-Betrieben H und I beobachtete Abstufung in der Prävalenz von *Campylobacter* zwischen Masthalle, Wintergarten und Freiland konnte statistisch belegt werden. Insbesondere der Unterschied zwischen Masthalle und Freiland war hochsignifikant ($z = 6.877$). Dies bestätigt die Vorstellung, dass der Wintergarten in BTS- und der Auslauf in Freiland-Betrieben nur solange mehrheitlich positiv sind, bis sich *Campylobacter* in der Herde etabliert hat und einen eigenen Kolonisationszyklus innerhalb der Herde - wegen der klimatischen Bedingungen namentlich in der Masthalle - aufrechterhält.

Zusammenfassung über alle Betriebe

In keinem der Weissbereiche der Vorräume dieser fünf positiv getesteten Betriebe wurde jemals *Campylobacter* nachgewiesen, auch nicht im Trogablauf. Dies lässt auf eine allgemein gut eingehaltene Personalhygiene und eine funktionierende Hygienebarriere schliessen.

Es werden folgende Eintrittspforten für *Campylobacter* in die Mastpouletherden vermutet: BTS-Betriebe A und B: Wintergarten; Freiland-Betrieb H: Auslauf ins Freiland; BTS-Betrieb C und Freiland-Betrieb I: Eingangstür. Mit „Eingangstür“ ist lediglich der Eintragsort der Bakterien beschrieben. Ob dort der Mensch als Vektor für *Campylobacter* dient oder ob die Kolonisation über tierische Vektoren wie Insekten oder Kleinsäuger geschieht, bleibe dahingestellt. Selbst eine aerogene Übertragung aus der Umwelt kann gemäss Literatur nicht ausgeschlossen werden (Berndtson et al., 1996a).

In drei von fünf Betrieben (A, B und H) dürften die Aussenklimabereiche die Problemzonen in Bezug auf *Campylobacter* darstellen, jene Bereiche also,

welche die Lebensqualität der Mastpoulets verbessern sollen. Hier prallen die Interessen des Tierschutzes und die vom Konsumenten vermehrt geforderte, ethisch vertretbarere Nutztierhaltung auf die von gesundheitspolitischer Seite verlangte Produktion von sicheren Lebensmitteln, die kein gesundheitliches Risiko für den Menschen in sich bergen. Diesem Dilemma kann wohl am besten durch einen gewissenhaften Umgang mit rohem Fleisch in der Küche des Konsumenten begegnet werden, was eine Sensibilisierung der Öffentlichkeit und eine sachliche Aufklärung über die *Campylobacter*-Problematik erfordert.

6.2 Phänotypisierung

Sowohl Diffusions- als auch Dilutionsverfahren wurden von verschiedenen Autoren als geeignet beschrieben, um Studien zur antibiotischen Empfindlichkeit bei *Campylobacter* spp. durchzuführen (Gaudreau and Gilbert, 1997; Lubert et al., 2003). Für Prävalenzbestimmungen resistenter *Campylobacter*-Stämme ist der Plättchen-Agardiffusionstest ausreichend und liefert mit Dilutionsmethoden übereinstimmende Ergebnisse (Engberg et al., 1999; Frediani-Wolf and Stephan, 2003).

Nach wie vor besteht das Problem, dass für die Dilutionsverfahren und den ebenfalls quantitativen E-Test für *Campylobacter* spp. nur vereinzelt Grenzwerte zur Resistenzbestimmung vorgeschlagen wurden; für den Plättchen-Agardiffusionstest liegen gar keine standardisierten Beurteilungskriterien für diese Bakterien vor. Fast alle Autoren, die mittels Plättchen-Agardiffusionstest die Resistenzsituation bei *Campylobacter* spp. untersucht haben, behelfen sich zur Beurteilung ihrer Ergebnisse mit den kritischen Werten für Hemmhofdurchmesser von *Enterobacteriaceae* nach NCCLS (Sáenz et al., 2000; Alfredson et al., 2003; Fallon et al., 2003; Pezzotti et al., 2003). In der hier vorliegenden Arbeit wurden die Hemmhofdurchmesser nach denselben Beurteilungskriterien des NCCLS bewertet (NCCLS, 1999), einerseits um für alle untersuchten Antibiotika dieselbe Referenz zu benutzen und andererseits um sich mit Untersuchungsergebnissen aus anderen Ländern vergleichen zu können.

Einen exemplarischen Überblick über die Resistenzlage bei *C. jejuni* in fünf industrialisierten Ländern bietet die Tabelle 7. Während für Chloramphenicol, die untersuchten Aminoglykoside Gentamicin und Streptomycin und das Makrolidantibiotikum Erythromycin allgemein günstige Resistenzlagen vorherrschen, liegen in bezug auf Tetracycline und vor allem die Fluoroquinolone (Enrofloxacin u. a.) und gewisse β -Lactam-Antibiotika (z.B. Ampicillin) teilweise bereits alarmierende Verhältnisse vor. Aus den USA beispielsweise wird berichtet, dass die Fluoroquinolon-Resistenz bei *C. jejuni* zwischen 1982 und 1992 noch überhaupt nicht vorkam und bis ins Jahr 2001 auf rund 40% gestiegen ist, während die Resistenz gegen Erythromycin als Vertreter der Makrolidantibiotika auf niedrigem Niveau (2 bis 5%) blieb (Gupta et al., 2004; Nachamkin et al., 2002).

Tabelle 7: Vergleich der Antibiotika-Resistenzen (%) von *C. jejuni*-Stämmen bei Mastpoulets in ausgewählten Ländern

Antibiotikum	Schweden	Irland	Spanien	Italien	Australien
Ampicillin	10 ^b	36 ^a	47 ^a		97 ^a /74 ^b
Chloramphenicol	0 ^a		0 ^a		
Ciprofloxacin oder Enrofloxacin	2 ^a	18 ^a	99 ^a	42 ^a	
Erythromycin	0 ^a	10 ^a	0 ^a	3 ^a	3 ^a
Gentamicin	0 ^a		12 ^a	2 ^a	
Streptomycin		3 ^a		2 ^a	
Tetracyclin	1 ^a	21 ^a	32 ^a	25 ^a	16 ^a
Literatur	Rönnert et al., 2004 ^a SVARM, 2002 ^b	Fallon et al., 2003	Sáenz et al., 2000	Pezzotti et al., 2003	Alfredson et al., 2003

^a Agarplatten-Diffusions-Methode

^b Dilutions-Methoden

Die rapid angestiegene Fluoroquinolon-Resistenz wird mit dem wichtigen und einfach zu erwerbenden Resistenzmechanismus bei *Campylobacter* spp. in Form einer einzigen Punktmutation im Gyrase A-Gen erklärt und fällt zeitlich mit dem Beginn des Einsatzes dieser Antibiotikumgruppe bei zur Lebensmittelgewinnung gehaltenen Tieren in vielen Ländern zusammen (Engberg et al., 2001; Oza et al., 2003; Chu et al., 2004). Länder mit niedrigem Fluoroquinolon-Resistenzauftreten bei *C. jejuni* aus Mastpoulets sind zum Beispiel Dänemark mit 4% und Japan mit 12% (Aarestrup et al., 1997; Ishihara et al., 2004). Die Resistenz gegen β -Lactam-Antibiotika ist bei *Campylobacter* spp. weit verbreitet, wobei die Produktion von β -Lactamase neben anderen diskutierten Resistenzmechanismen eine grosse Rolle zu spielen scheint (Lachance et al., 1991; Lachance et al., 1993).

Mangelnde Hygiene im Umgang mit rohem Geflügelfleisch stellt den grössten Risikofaktor für humane Campylobacteriosen dar, und an einer wachsenden Anzahl dieser Infektionen sind antibiotikaresistente *Campylobacter*-Stämme beteiligt (Altekruse et al., 1999). Daher ist das Resistenzauftreten bei *Campylobacter* spp. aus Mastpoulets von grossem Interesse und darf in der vorliegenden Untersuchung mit 37% als günstig betrachtet werden. Die fehlenden Resistenzen gegen Chloramphenicol, Erythromycin, Gentamicin und Streptomycin entsprechen weitgehend dem ausländischen Resistenzstatus bei *Campylobacter* spp. Zudem waren alle 157 untersuchten Stämme gegenüber Tetracyclin empfindlich. Es ist kaum verwunderlich, dass die 58 resistenten Stämme entweder gegen ein Fluoroquinolon oder ein β -Lactam-Antibiotikum Resistenz aufwiesen. Vergleicht man die Anteile resistenter Stämme von 29% für Ampicillin und 8% für Ciprofloxacin mit den Zahlen aus dem Ausland, so kann die Schweiz in die Reihe der nordeuropäischen Länder und Japan mit günstiger Resistenzlage eingegliedert werden (Tabelle 7) (Aarestrup et al., 1997; Ishihara et al., 2004).

Alle 13 Ciprofloxacin-resistenten Stämme zeigten im Labor auf Müller-Hinton Agar mit Schafblut ein Wachstum bis an das Antibiotikum-Plättchen heran, es bildete sich kein Hemmhof (Abbildung 20d). Das bedeutet, dass am

Resistenzanteil gegen Ciprofloxacin kein Zweifel besteht. Betrachtet man hingegen für Ampicillin in Abbildung 20b die als gestrichelte Linien eingezeichneten Grenzwerte für „intermediär“ und „resistent“ nach NCCLS, so stellt man fest, dass aufgrund der Beurteilungskriterien für *Enterobacteriaceae* die Grenze des Hemmhofdurchmessers für „resistent“ in einen Bereich fällt, wo eine Verschiebung dieser Grenze um wenige Millimeter sehr grosse Auswirkungen auf den festgestellten Anteil Ampicillin-resistenter Stämme hätte. Sowohl die Prozentzahlen für Ampicillin-Resistenz als auch das Auftreten dieser Resistenz in drei der fünf *Campylobacter*-positiven Betriebe sind daher kritisch zu bewerten.

Ein Vergleich zwischen *C. jejuni* und *C. coli* zeigt, dass bei letzterem generell grössere Anteile resistenter Stämme gefunden werden (Aarestrup et al., 1997; Bywater et al., 2004). Ferner scheinen die Haltungsbedingungen der Mastpoulets und der Einsatz von Antibiotika das Auftreten von Resistenzen bei *C. jejuni* und *C. coli* massgeblich zu beeinflussen (Avrain et al., 2003; Heuer et al., 2001). Man kann daraus schliessen, dass wir trotz einfach zu erwerbender Resistenzmechanismen der Resistenzproblematik nicht hilflos ausgesetzt sind. Mit einer korrekten und konsequent nur therapeutischen Anwendung von Antibiotika in Pouletmastbetrieben sollte das Resistenzvorkommen bei *C. jejuni* auf niedrigem Niveau gehalten werden können.

Im Rahmen dieser Studie wurden die Resistenzprofile der *Campylobacter*-Stämme im Sinne einer Phänotypisierung als epidemiologisches Hilfsmittel eingesetzt. Die Beurteilung der Resistenz gegen Ciprofloxacin war für jeden Stamm eindeutig. Es kann daher verlässlich festgestellt werden, dass alle Stämme im Betrieb A demselben Phänotypen angehören und als einheitliche Population zu betrachten sind (Abbildung 20d). Aufgrund der fehlenden standardisierten Beurteilungskriterien für *Campylobacter* spp. müssen die Ergebnisse dieser Arbeit zu den aufgetretenen Ampicillin-Resistenzen sehr kritisch bewertet werden, verteilten sich doch die Hemmhofdurchmesser insbesondere im Betrieb H zum Grossteil im Millimeterbereich um den

Resistenzgrenzwert für *Enterobacteriaceae* nach NCCLS. Ohne Prozentzahlen zu verwenden, liefert die Abbildung 20b dennoch einen sinnvollen Überblick über die Verteilung der Ampicillin-Hemmhofdurchmesser innerhalb der fünf Betriebe. Die mittleren 80% der Hemmhofdurchmesser (zwischen 10%- und 90%-Quantil) für jeden Betrieb liegen in klar unterschiedlichen Bereichen auf der Skala, was eine gewisse phänotypische Homogenität der *Campylobacter*-Stämme innerhalb der Betriebe widerspiegelt. Dieses Bild wird im Resistenzmuster für Amoxicillin bestätigt, was mit einer mindestens teilweise vorhandenen β -Lactamase-Aktivität der Stämme erklärt werden könnte (Abbildung 20a). Tajada et al. fanden bei thermophilen *Campylobacter* einen nennenswerten Unterschied zwischen der Empfindlichkeit gegen Ampicillin und Amoxicillin, was darauf schliessen lässt, dass weitere Resistenzmechanismen ebenfalls eine Rolle spielen dürften (Tajada et al., 1996). Damit könnten die in allen fünf Betrieben beobachteten, grösseren Hemmhofdurchmesser für Amoxicillin als für Ampicillin erklärt werden.

Zusammenfassend muss aufgrund der vorliegenden Ergebnisse festgestellt werden, dass sich Antibiotika-Resistenzprofile nicht zur Typisierung einer *Campylobacter*-Population in Mastpouletherden eignen.

6.3 Genotypisierung

Sowohl die Analyse des Restriktionsfragment-Längenpolymorphismus (RFLP) von PCR-Produkten der Flagellin-Gene A oder B (*fla*-typing) als auch das Makrorestriktionsverfahren mit dem Enzym *Sma*I und anschliessender Pulsfeld-Gelelektrophorese (PFGE) wurden verschiedentlich als geeignete und standardisierbare Genotypisierungsverfahren für epidemiologische Studien zu *C. jejuni* bei Mastpoulets vorgeschlagen (Yan et al., 1991; Gibson et al., 1995; Ayling et al., 1996; Petersen and On, 2000; Harrington et al., 2003; Lindmark et al., 2004; Mellmann et al., 2004). Vereinzelt wird aber auch die PFGE mit *Kpn*I bevorzugt (Michaud et al., 2001). Auf die Problematik der DNase-positiven *C. jejuni*-Stämme wurde bereits früh aufmerksam gemacht; trotz der Verwendung von Proteinase K als Endopeptidase, die eine schnelle Inaktivierung von endogenen Nukleasen ermöglicht, degradieren solche

Stämme ihr eigenes Genom, bevor die Makrorestriktions-Endonuklease in der PFGE zum Einsatz kommt, und liefern daher möglicherweise falsche Makrorestriktionsprofile. Mit vorgängiger Formaldehyd-Fixation der Bakterienzellen kann dieser Fehler vermieden werden (Gibson et al., 1994). Vor diesem Hintergrund wurden in der vorliegenden Studie einige Makrorestriktionen unter Zusatz von Formaldehyd wiederholt, wobei keine Veränderung der Resultate beobachtet werden konnte. Ferner wird hervorgehoben, dass insbesondere die Kombination verschiedener Genotypisierungsverfahren für ein optimales Typing von Vorteil sei (De Boer et al., 2000; Petersen and On, 2000; Wassenaar and Newell, 2000).

Leider erwiesen sich in der vorliegenden Untersuchung nicht alle 157 *C. jejuni*-Stämme als mit beiden Methoden genotypisierbar, trotz wiederholter Versuche mit erfolgreich dargestellten Positivkontrollen und somit funktionierender Methodik. Zwanzig Stämme lieferten in der RFLP-Analyse kein Bandenmuster, und bei 12 zum Teil anderen Stämmen blieb das Makrorestriktionsverfahren erfolglos. Die 135 mit beiden Verfahren genotypisierbaren Stämme aus vier Betrieben konnten eindeutig einem der fünf Genotypen Ac, Bf, Ca, Db oder Ee zugeordnet werden (Tabelle 6). Die Anwendung der vorliegenden zwei Methoden lieferte also in beiden Fällen dieselbe Gruppierung der Stämme, was nicht unbedingt selbstverständlich ist. Beide Methoden verfügten zumindest in dieser Studie über dieselbe diskriminatorische Stärke, die für epidemiologische Studien in Pouletmastbetrieben geeignet zu sein scheint.

Jeder der Betriebe weist einen anderen Genotypen auf, oder anders gesagt, kein Genotyp kommt in mehr als einem Betrieb vor. Dies spricht für eine gewissenhafte Probenentnahme unter Einhaltung der Hygienevorschriften für Besucher in Pouletmastställen; *Campylobacter* wurde nicht von einem Betrieb in den nächsten verschleppt.

In drei Betrieben (A, B und I) wurde innerhalb der jeweiligen Herde ein einziger Genotyp gefunden. In einem weiteren Betrieb (H) wurde bis auf eine Probe kurz vor Schlachtung ebenfalls nur ein Genotyp nachgewiesen. Diese

fast durchgehend sehr einheitliche Verteilung der Genotypen auf die Betriebe trifft eigentlich auch für den in Tabelle 6 nicht erwähnten Betrieb C zu. Die fünf aus diesem Betrieb stammenden Proben zeigten in der PFGE alle den Typ d, waren aber mit RFLP nicht typisierbar (Abbildung 22). Dieser Umstand an sich weist jedoch auch auf eine Gemeinsamkeit dieser fünf Stämme hin, womit anzunehmen ist, dass im Betrieb C wie in den Betrieben A, B und I in der Herde ein einziger und eigener Genotyp vorkam.

Diese genotypische Einheitlichkeit der *C. jejuni*-Stämme innerhalb der Betriebe lässt in Kombination mit Ergebnissen zur Keimausbreitung in der Herde zwei mögliche Schlüsse bezüglich *Campylobacter*-Eintrag aus der Umwelt zu. Entweder geht die Herdenbesiedlung durch die Ausbreitung eines punktuell in die Herde eingebrachten *Campylobacter*-Stammes vor sich, wobei dieser seine vorherrschende Stellung bis zur Schlachtung der Herde beibehält. Dabei wäre es denkbar, dass in der den Stall umgebenden Umwelt noch weitere *Campylobacter*-Stämme vorhanden sind. Es ist allerdings auch vorstellbar, dass ein starker Kolonisationsdruck in der Stallumgebung durch einen einzigen Stamm aufrechterhalten wird und die *Campylobacter*-Übertragung auf die Herde als mehrmaliges, womöglich sogar über längere Zeit andauerndes Ereignis zu betrachten ist. Allein aufgrund des einheitlichen Genotypen-Vorkommens innerhalb einer Herde sind diese zwei Szenarien nicht voneinander zu unterscheiden. Für einen einmaligen, befristeten Eintrag aus der Umwelt mit Keimvermehrung innerhalb der Herde ohne weiteren Umweltkontakt sprechen allerdings die Ergebnisse aus der Prävalenzerhebung. Im BTS-Betrieb B und im Freiland-Betrieb H fiel auf, dass im Wintergarten resp. im Auslauf ins Freiland nur in der jeweils ersten positiven Beprobung *Campylobacter* nachgewiesen wurde; ab der zweiten positiven Beprobung blieben diese Aussenklimabereiche mehrheitlich negativ. Die Probe Nr. H-XIV-30 mit dem im Betrieb H neuen Genotypen Ee war eine Kotprobe, die am äussersten Rand des beprobten Bereiches im Freiland gesammelt wurde (Abbildung 16). Diese Probe ist der einzige direkte Hinweis auf einen zweiten Eintrag von *Campylobacter* aus der Umwelt in eine bereits besiedelte Herde. Natürlich wäre es spannend gewesen zu erfahren, ob dieser neue Genotyp Ee

den in der Herde etablierten Genotypen Ac zu verdrängen vermocht hätte. Leider wurden die Tiere am folgenden Tag ausgestallt.

Die vorliegende Arbeit kann aufgrund des ähnlichen Projektaufbaus sehr gut mit derjenigen von Shreeve et al. verglichen werden (Shreeve et al., 2000). Shreeve und seine Mitarbeiter untersuchten zwei aufeinanderfolgende Herden in einem englischen Pouletmastbetrieb in weitgehend ähnlicher Weise, wie es hier gemacht wurde. Die Kolonisation der ersten Herde mit *Campylobacter* wurde am 32. Tag der Mast im hinteren Teil der Masthalle entdeckt. Eine Woche später waren fast alle Tiere der Herde kolonisiert, alle mit demselben *fla*-Genotyp von *C. jejuni*. Am 46. Tag wurde ein zweiter *C. jejuni*-Stamm entdeckt, und zwar wiederum in einigen Vögeln im hinteren Teil der Halle. Die verstärkten Hygienemaßnahmen an der Eingangstüre am hinteren Ende der Masthalle vermochten die Kolonisation der zweiten Herde nicht zu verhindern. Erneut wurde die Herde in der fünften Mastwoche kolonisiert; wie zuvor waren anfangs Tiere im hinteren Teil der Masthalle positiv. Diesmal wurde allerdings durchgehend nur ein *C. jejuni*-Stamm isoliert, der von den vorherigen zwei Stämmen verschieden war. Zu Eintragsquellen und Übertragungswegen konnten auch in dieser Arbeit keine konkreten Angaben gemacht werden.

Die Arbeit von Shreeve und Mitarbeitern liefert in vielerlei Hinsicht ein ähnliches Bild wie die vorliegende Arbeit: Die Herden wurden relativ spät kolonisiert (erst ab der 5. Mastwoche), und die Kolonisation begann – vergleichbar mit den Betrieben C und I – auf der Seite der Halle, wo eine Eingangstüre lag. Dabei muss erwähnt werden, dass Wintergärten in der intensiven Pouletmast eine schweizerische Spezialität darstellen; in den Ländern der Europäischen Union steht den Poulets in der konventionellen Mast kein Aussenklimabereich zur Verfügung, womit dieser auch als mögliche Eintrittspforte wie in den Betrieben A und B wegfällt. Übereinstimmend wurde die Ausbreitung der Herdenbesiedlung innerhalb etwa einer Woche auf fast alle Tiere beobachtet. Analog den Herden in den Betrieben A, B, C und I wurde in der zweiten Herde durchgehend bis zur Schlachtung nur ein

C. jejuni-Stamm gefunden, während in der ersten Herde gegen Ende der Mast wie in Betrieb H ein zusätzlicher Genotyp entdeckt wurde, in beiden Fällen an der Stelle, woher auch die Kolonisation mit dem ersten aufgetretenen Genotypen vermutlich Einzug hielt. Die vorliegende Arbeit bestätigt also das von Shreeve et al. und auch anderen Autoren beobachtete, einheitliche Auftreten von *C. jejuni*-Stämmen in Mastpouletherden (Berndtson et al., 1995; Jacobs-Reitsma et al., 1995; Ayling et al., 1996; Ertas et al., 2004).

In Hinblick auf die Fragestellung der vorliegenden Arbeit wird festgestellt, dass es in den fünf *Campylobacter*-positiven der 14 untersuchten Herden gelungen ist, die Ausbreitung von *Campylobacter* innerhalb der Herden zu beobachten und mitzuverfolgen. Die isolierten Stämme wurden phänotypisch und genotypisch charakterisiert, wobei sich beide Genotypisierungsverfahren (*fla*-typing und Makrorestriktionsanalyse) sowie deren Kombination zur Untersuchung einer *Campylobacter*-Population innerhalb von Mastpouletherden als geeignet erwiesen. Die Phänotypisierung mittels Antibiotika-Resistenzprofilen ist zu diesem Zweck nicht zu empfehlen, da korrekte Schlussfolgerungen aufgrund fehlender Beurteilungskriterien schwierig sind. Alle *Campylobacter*-positiven Herden wiesen nur die Spezies *C. jejuni* auf. Innerhalb einer Herde wurde jeweils ein eigener und bis zur Schlachtung dominierender Genotyp gefunden. Nur in einer von fünf Herden konnte kurz vor Schlachtung noch ein zweiter Genotyp nachgewiesen werden. Als Eintrittspforten werden in drei Betrieben die Aussenklimabereiche, in zwei Betrieben hingegen die Eingangstüre vermutet. Wintergärten und Freiland-Zugänge stellen einen schwierig zu kontrollierenden Risikofaktor für die *Campylobacter*-Kolonisation einer Mastpouletherde dar. Die Hygienemassnahmen an der Eingangstüre sollten als wichtiges Hilfsmittel zur Vermeidung einer Kolonisation der Herde unbedingt eingehalten werden.

6.4 Ausblick

Aufgrund des vorwiegend einheitlichen Auftretens von *C. jejuni*-Subtypen in Mastpouletherden darf man für zukünftige Studien annehmen, dass die Entnahme weniger Kotproben aus der Herde den dort vorherrschenden

C. jejuni-Genotypen erfasst. Dadurch wäre es möglich, mit gleichem technischem Aufwand auch das Umfeld um den Pouletmaststall zu beproben und damit mehr über mögliche Reservoirs, Eintragsquellen und Vektoren von *Campylobacter* in/aus der Umgebung zu erfahren.

Für eine verlässliche Genotypisierung von *C. jejuni* wird in der Literatur die Kombination von zwei unabhängigen Typisierungsmethoden empfohlen (De Boer et al., 2000; Petersen and On, 2000; Wassenaar and Newell, 2000). In der vorliegenden Arbeit lieferte die parallele Durchführung von zwei Methoden gegenüber jeder einzelnen keine zusätzliche Information. Selbstverständlich ist die Absicherung der Ergebnisse durch zwei unabhängige Verfahren als positiv zu werten; der zeitliche und finanzielle Aufwand dafür ist aber enorm. Es ist daher zu überlegen, ob man sich für epidemiologische Fragestellungen zu *Campylobacter* spp. bei Mastpoulets in Zukunft auf das *fla*-typing mit RFLP-Analyse des *flaA*- und/oder *flaB*-Genes beschränken will (Mellmann et al., 2004). Diese Methode ist einfacher durchführbar als die PFGE und liefert schneller ebenso diskriminative Ergebnisse.

7 Abbildungen

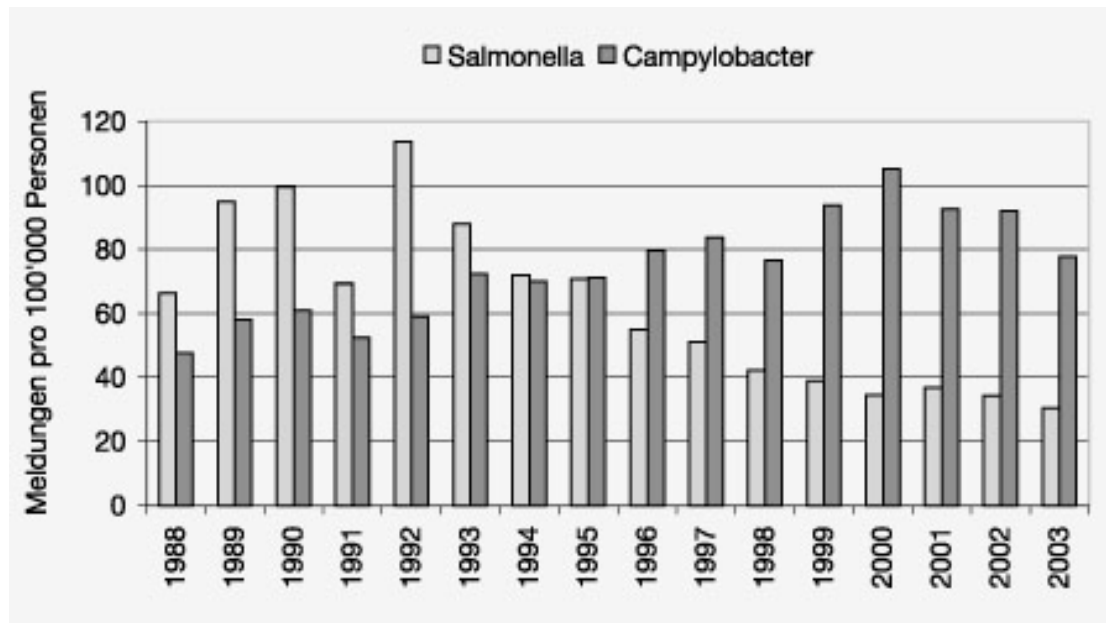


Abbildung 1: Vergleich der gemeldeten humanen Salmonellosen und Campylobacteriosen während der letzten 15 Jahre in der Schweiz

Quelle: Schweizer Zoonosebericht 2003, BVET-Magazin 3/2004

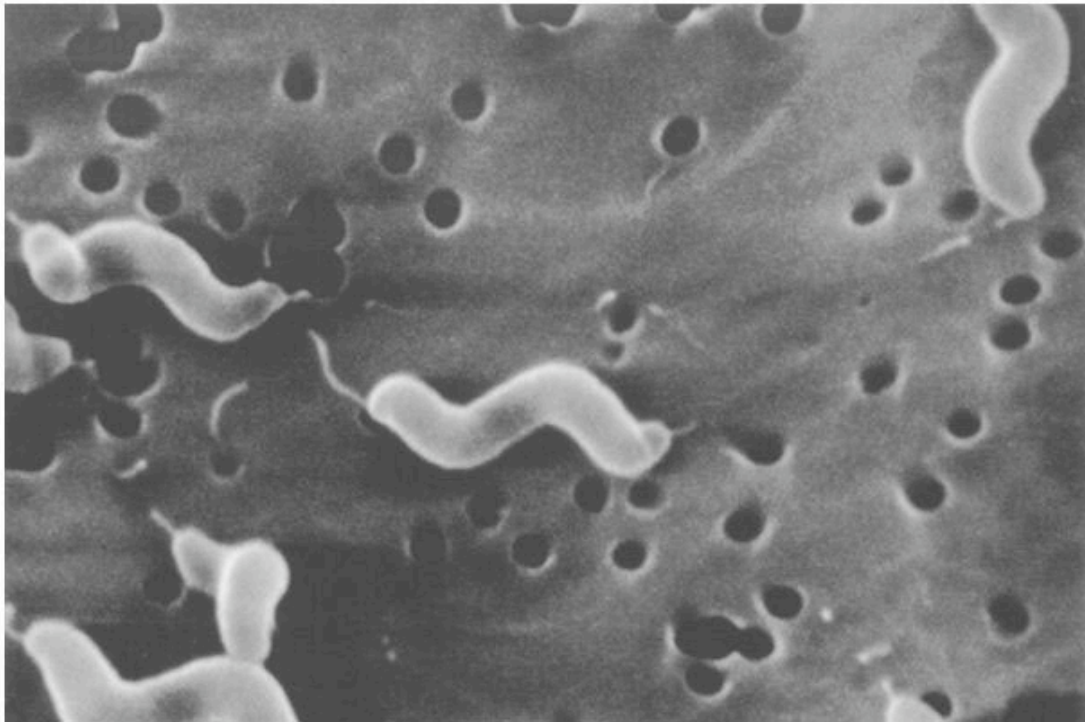


Abbildung 2: Elektronenmikroskopische Aufnahme von *Campylobacter jejuni*. Gut zu erkennen sind die Korkenzieherform und die bipolaren Flagellen.

Quelle: Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine, Blacksburg, Virginia.



Abbildung 3a



Abbildung 3b

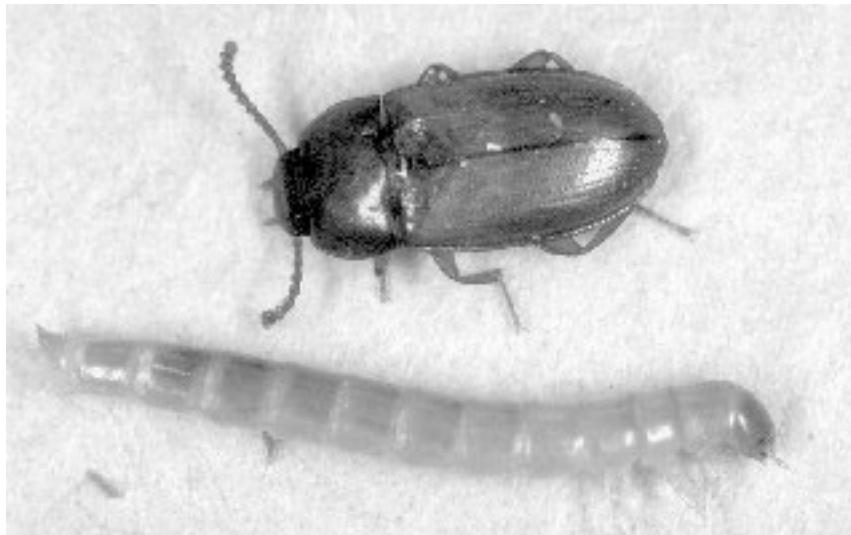


Abbildung 3c

Abbildungen 3a – c: Insekten, welche als Reservoir und Vektoren für *C. jejuni* in Pouletmastbetrieben diskutiert werden:

3a: *Musca domestica*, Gemeine Stubenfliege, housefly; 7-8 mm lang

3b: *Stomoxys calcitrans*, Gemeine Stechfliege, stablefly; 6-7 mm lang

3c: *Alphitobius diaperinus*, Glänzendschwarzer Getreideschimmelkäfer, darkling beetle / lesser mealworm; Imago 6 mm lang, Larve bis zu 12 mm lang

Quellen:

3a: Department of Entomology, University of Nebraska, Lincoln, NE

3b: Department of Entomology, North Carolina State University, Raleigh, NC

3c: <http://www.frankkern.de/haltung.htm>

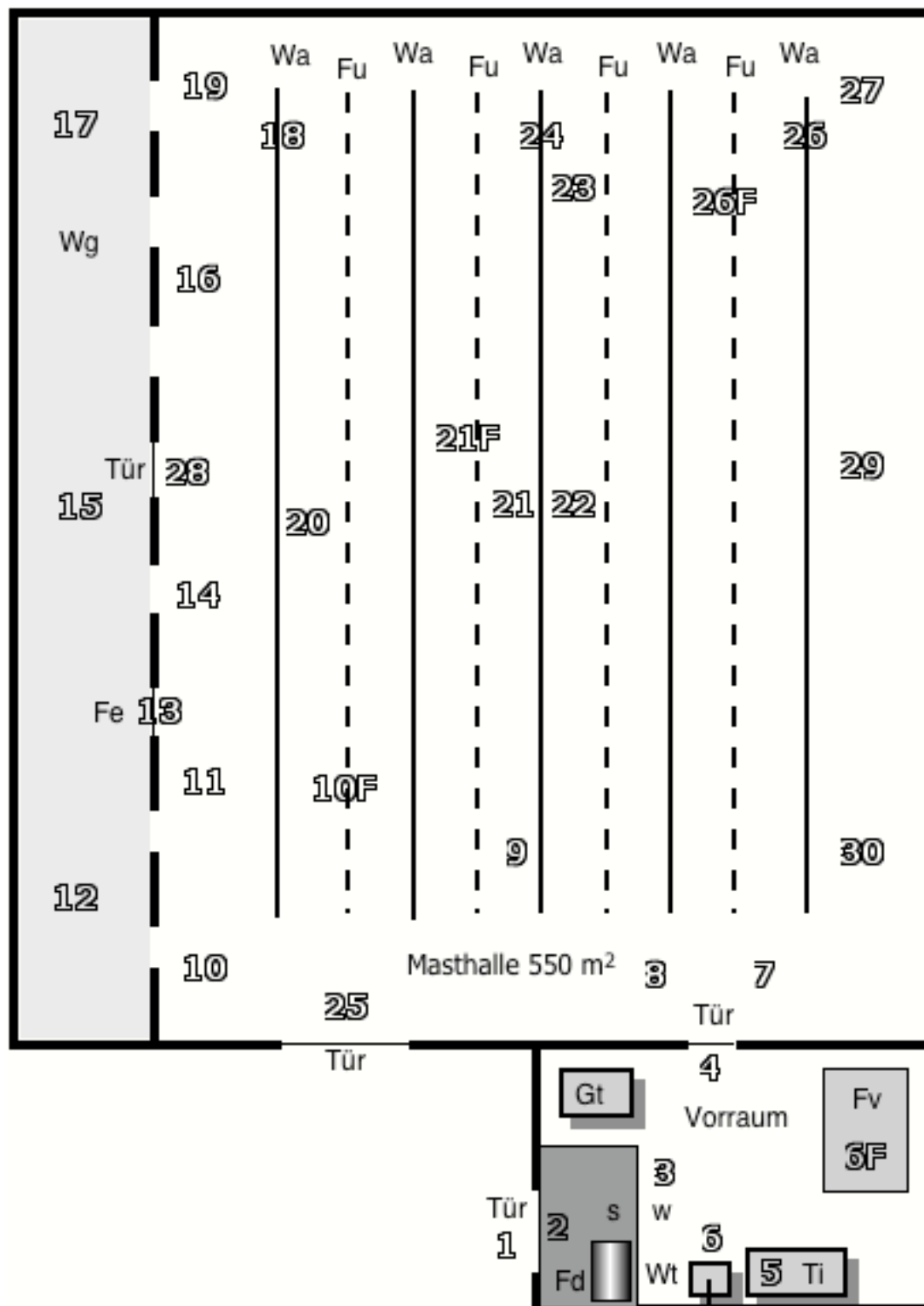


Abbildung 4: Grundriss und Probenentnahmestellen der BTS-Betriebe A und B (Legende S. 69)

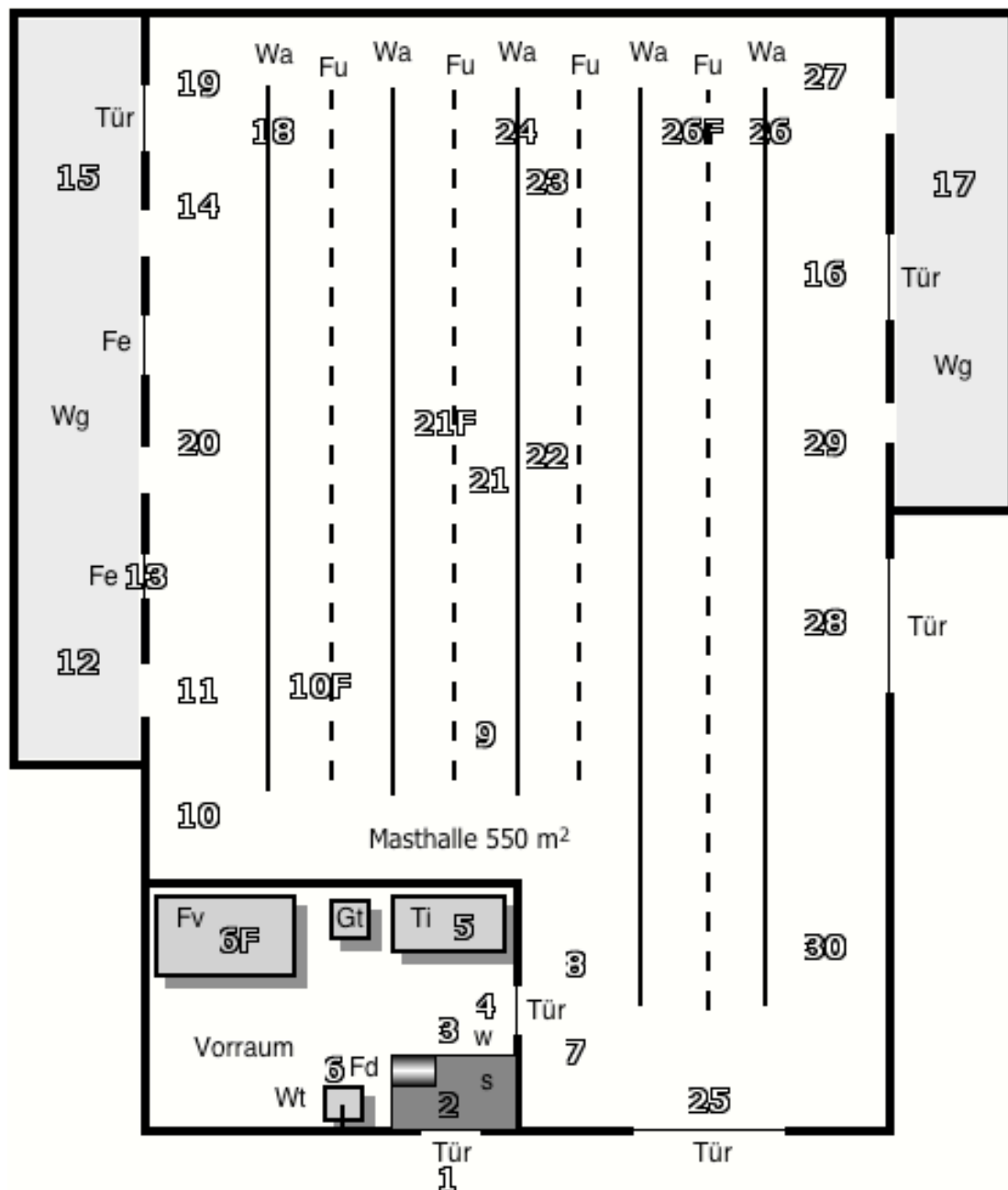


Abbildung 5: Grundriss und Probenentnahmestellen des BTS-Betriebes C (Legende S. 69)

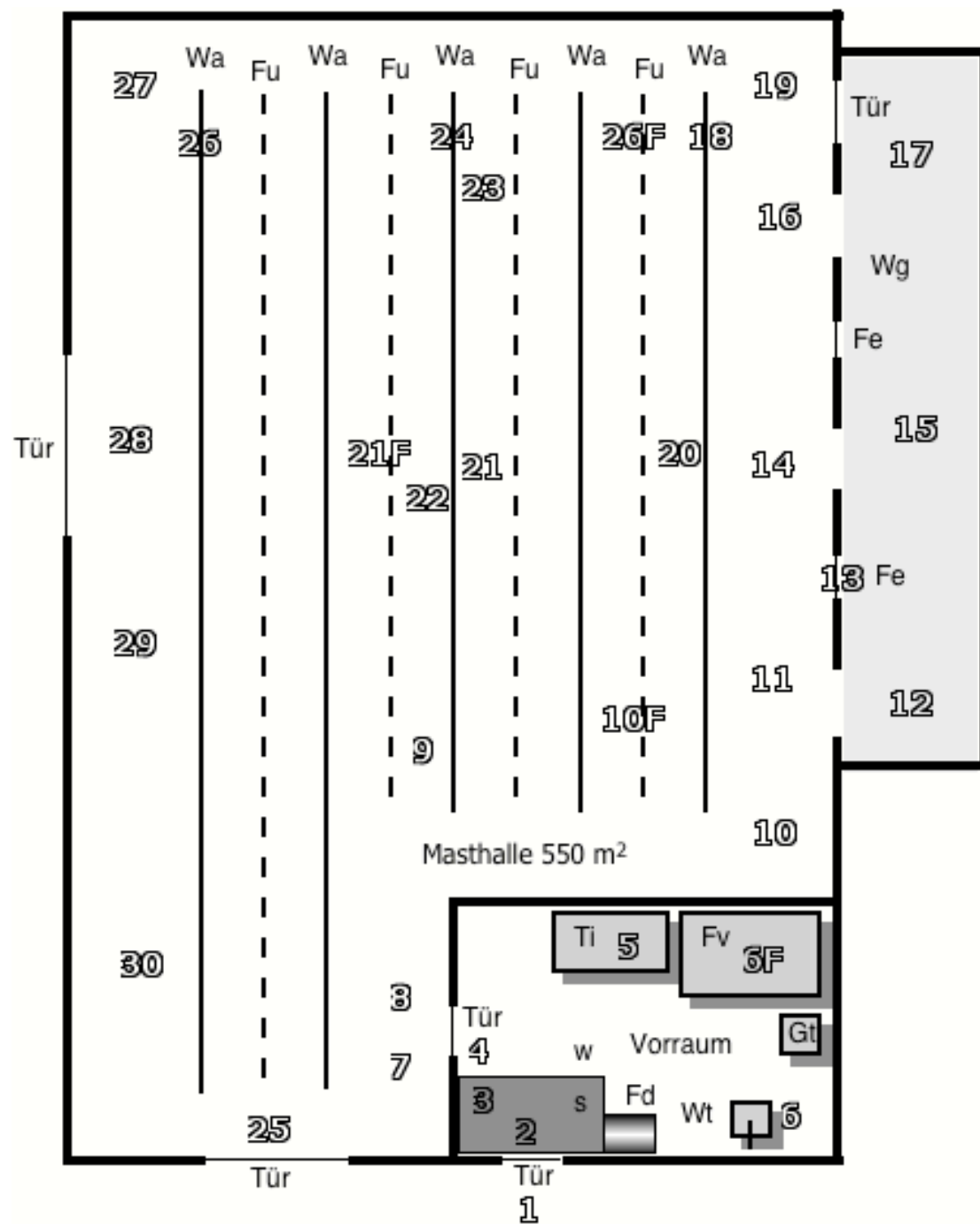


Abbildung 6: Grundriss und Probenentnahmestellen des BTS-Betriebes D (Legende S. 69)

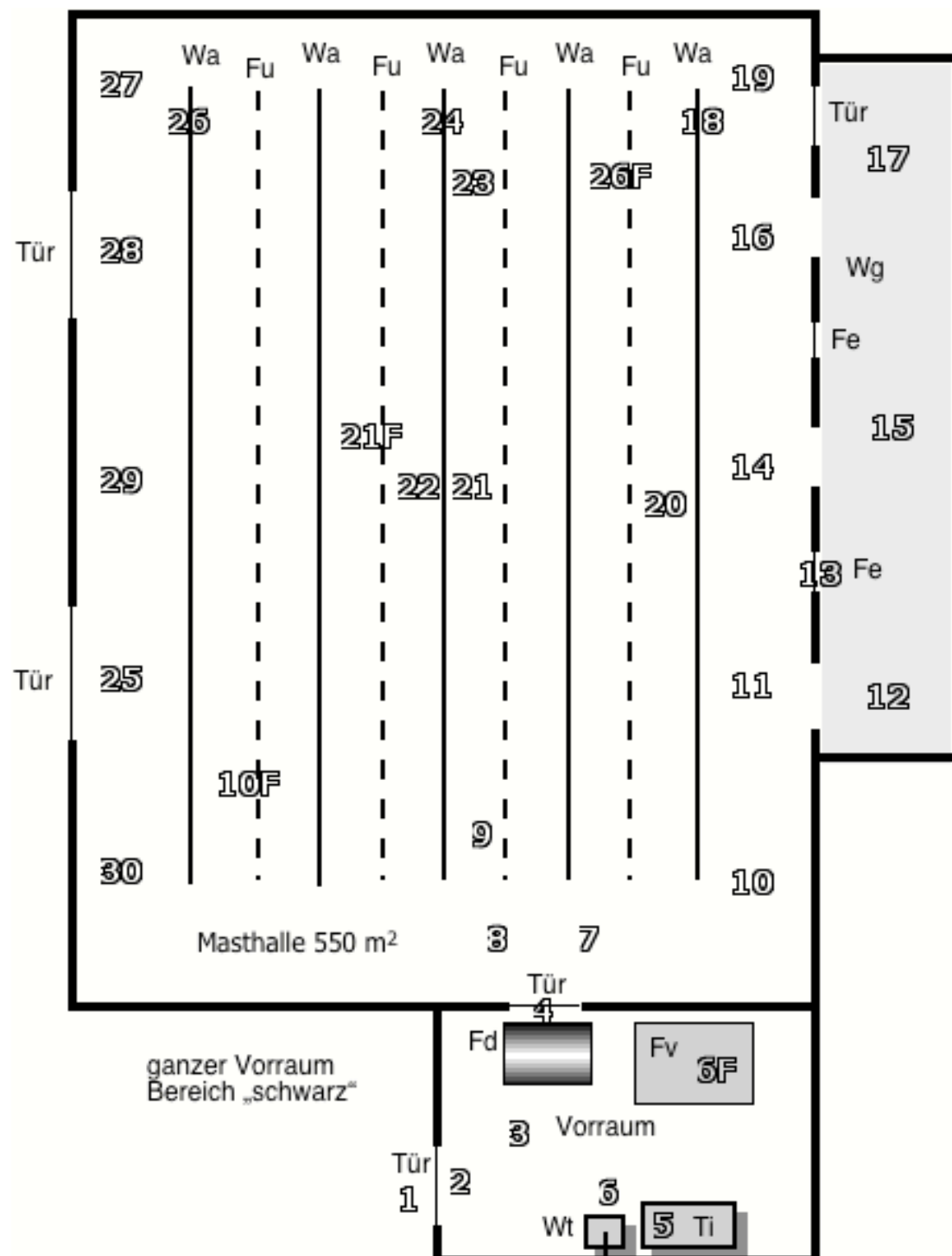


Abbildung 7: Grundriss und Probenentnahmestellen des BTS-Betriebes E (Legende S. 69)

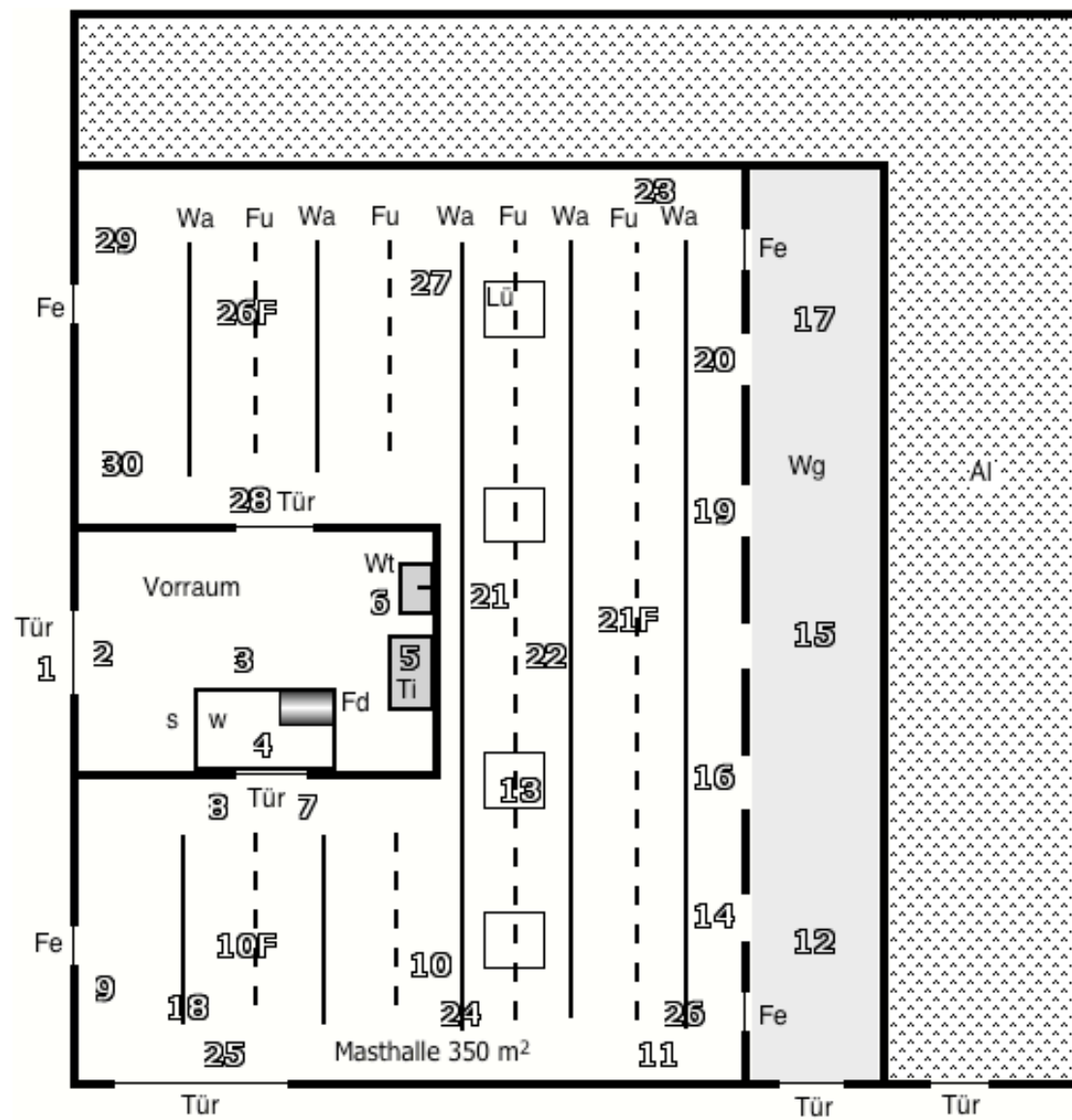


Abbildung 8: Grundriss und Probenentnahmestellen des Freiland-Betriebes F (Legende S. 69)

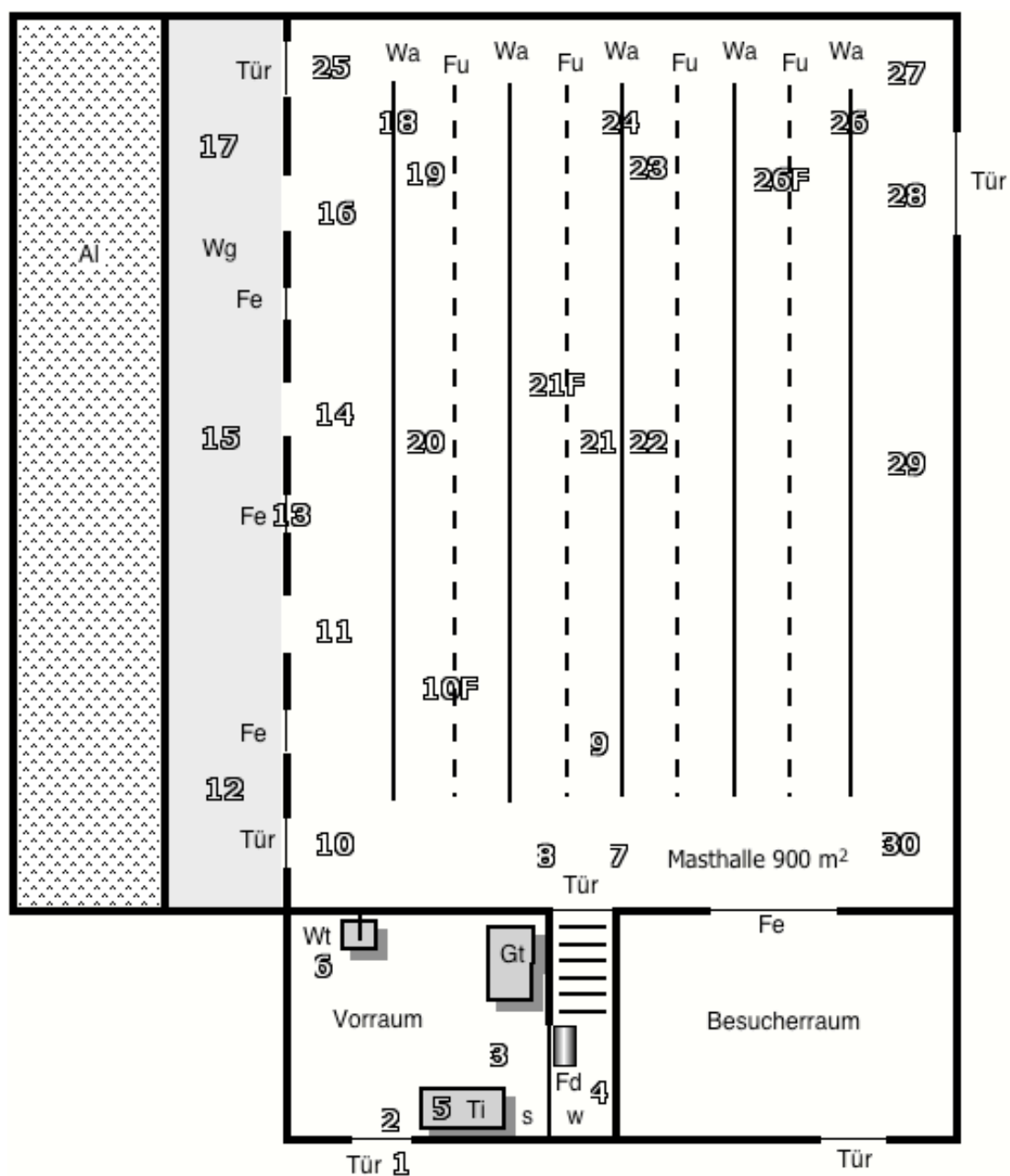


Abbildung 9: Grundriss und Probenentnahmestellen des Freiland-Betriebes G (Legende S. 69)

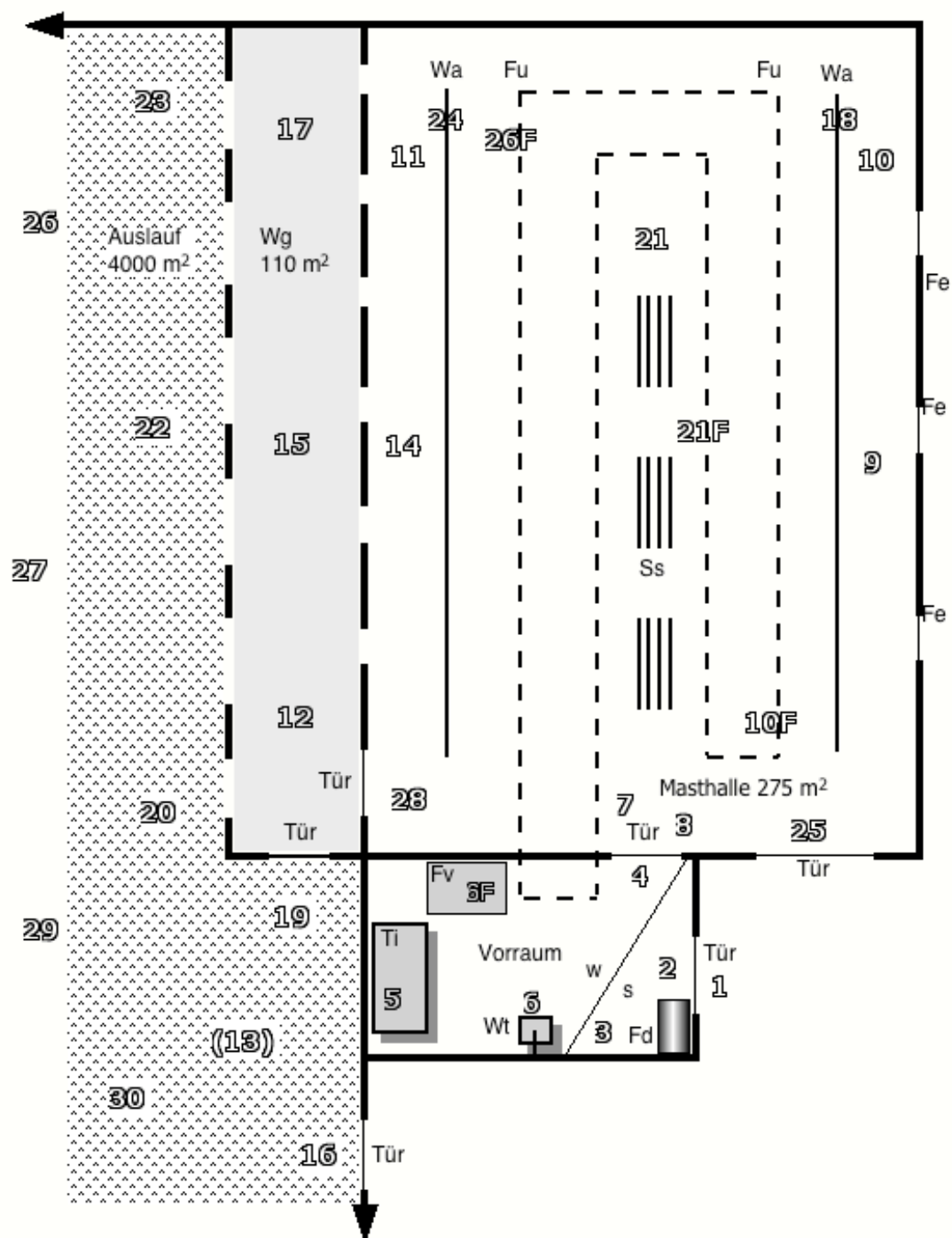


Abbildung 10: Grundriss und Probenentnahmestellen des Freiland-Betriebes H (Legende S. 69)

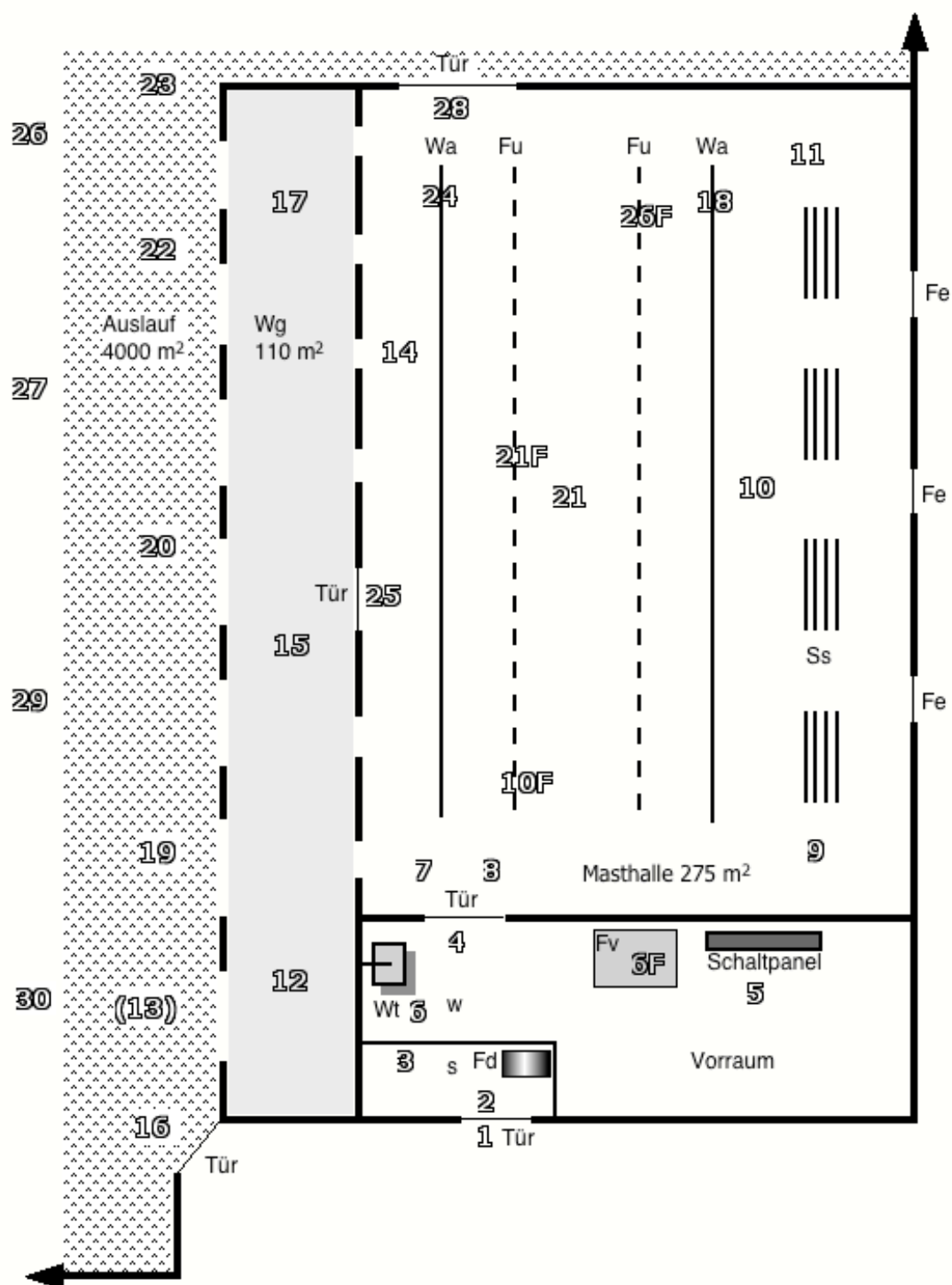


Abbildung 11: Grundriss und Probenentnahmestellen des Freiland-Betriebes I (Legende S. 69)

Abbildungen 4 bis 11:

Wg: Wintergarten

Wa: Wasserlinie

Fu: Futterlinie

Fe: Fenster

Ss: Sitzstangen

Gt: Gefriertruhe

Fv: Futtervorbehälter

Ti: Tisch

Wt: Waschtrog

Fd: Fussdesinfektionsbad

s: schwarz

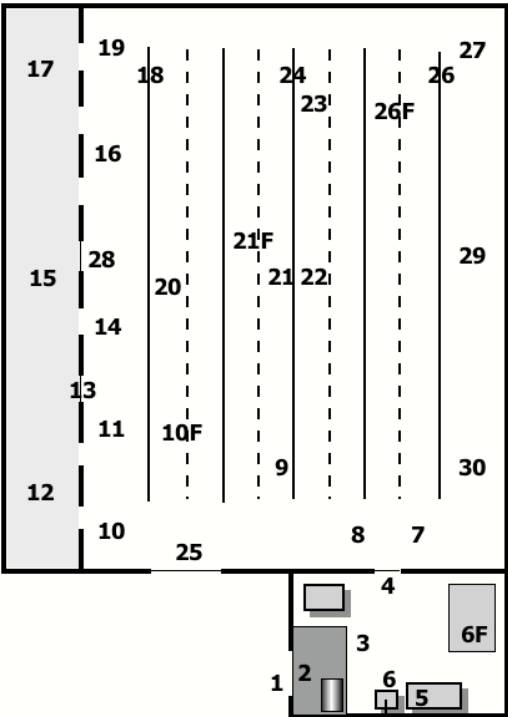
w: weiss

Probenmaterial:

- | | |
|--------------------------------|---------------------------------|
| 1: Oberflächenprobe | 16: Kotprobe |
| 2: Oberflächenprobe | 17: Oberflächen- oder Kotprobe |
| 3: Oberflächenprobe | 18: Wasserprobe |
| 4: Oberflächenprobe | 19: Kotprobe |
| 5: Oberflächenprobe | 20: Kotprobe |
| 6: Trogablauf | 21: Streuprobe |
| 7: Kotprobe | 22: Kotprobe |
| 8: Kotprobe | 23: Kotprobe |
| 9: Kotprobe | 24: Wasserprobe |
| 10: Kotprobe | 25: Kotprobe |
| 11: Kotprobe | 26: BTS: Wasserprobe |
| 12: Oberflächen- oder Kotprobe | Freiland: Kotprobe |
| 13: BTS: Oberflächenprobe | 27: Kotprobe |
| Freiland: Ungeziefer | 28: Kotprobe |
| 14: Kotprobe | 29: Kotprobe |
| 15: Oberflächen- oder Kotprobe | 30: Kotprobe |
| | 6F, 10F, 21F, 26F: Futterproben |

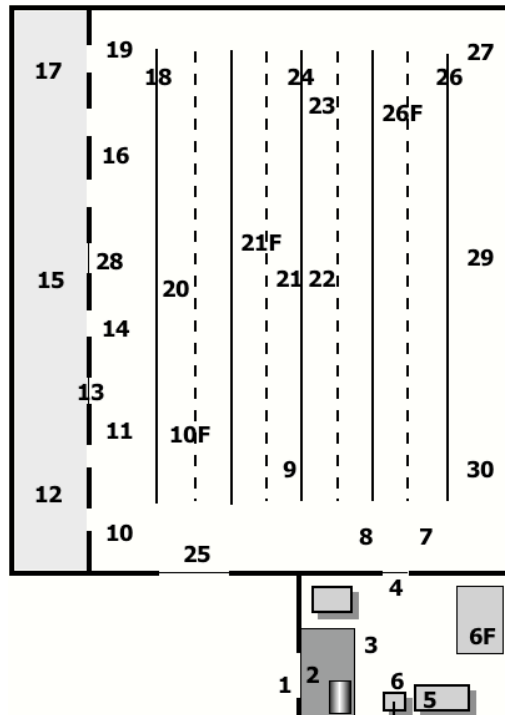
	Sept.	Okt.	Nov.	Dez.03	Jan.04	Feb.	März	April	Mai	Juni	Juli
A	■	■	■	■						■	■
B	■	■	■	■						■	■
C		■	■	■						■	■
D		■	■	■					■	■	■
E		■	■	■					■	■	■
F					■	■	■	■			
G						■	■	■			
H									■	■	■
I									■	■	■

Abbildung 12: Übersicht über die beprobten Mastumgänge (grau) in den fünf BTS-Betrieben A bis E und den vier Freiland-Betrieben F bis I. Dunkel eingefärbt sind die Mastwochen, in denen die Mastpouletherden *Campylobacter*-positiv getestet wurden.



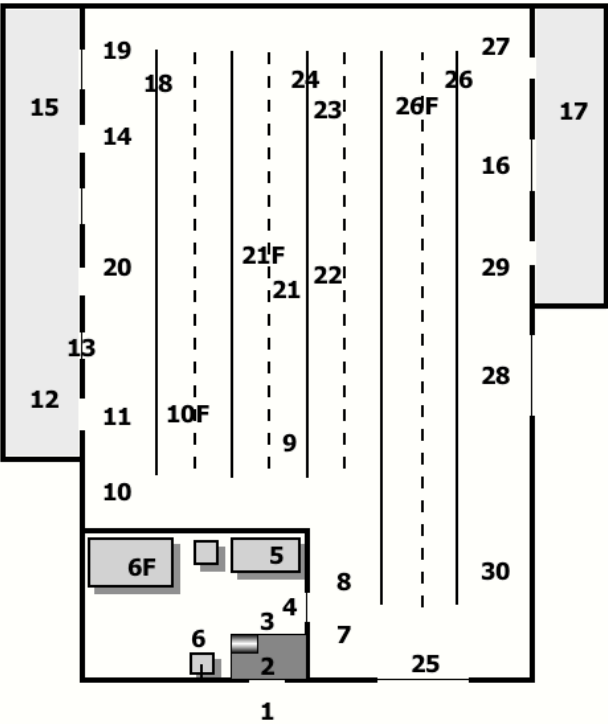
Bepro- bung Proben-Nr.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX		
	Umgebung										
1	Vorraum										
2											
3											
4											
5											
6											
7	Masthalle										
8											
9											
10											
11											
14											
16											
19											
20											
22											
23											
25											
27											
28											
29											
30											
12	Wintergarten										
15											
17											
13	Lüftung										
18	Trinkwasser										
24											
26											
21	Einstreu										
6F	Futter										
10F											
21F											
26F											

Abbildung 13: Verteilung der *Campylobacter*-positiven Proben (dunkel eingefärbt) im BTS-Betrieb A.



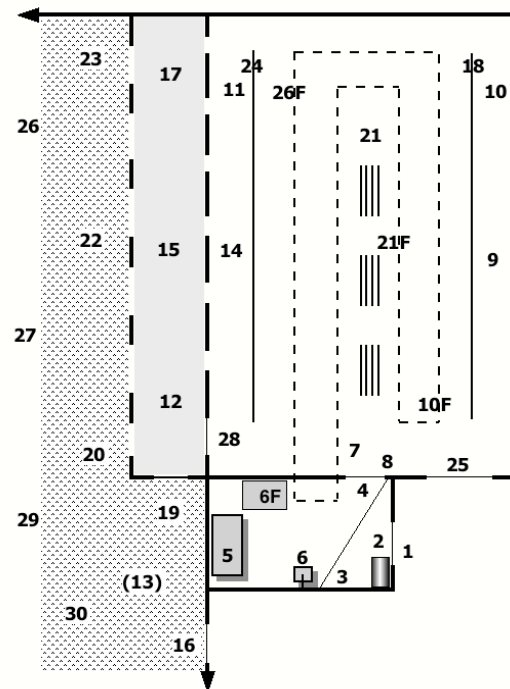
Beprobung Proben-Nr.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX		
	Umgebung										
1										Vorraum	
2											
3											
4											
5											
6											
7										Masthalle	
8											
9											
10											
11											
14											
16											
19											
20											
22											
23											
25											
27											
28											
29											
30											
12											Wintergarten
15											
17											
13										Lüftung	
18										Trinkwasser	
24											
26											
21										Einstreu	
6F										Futter	
10F											
21F											
26F											

Abbildung 14: Verteilung der *Campylobacter*-positiven Proben (dunkel eingefärbt) im BTS-Betrieb B.



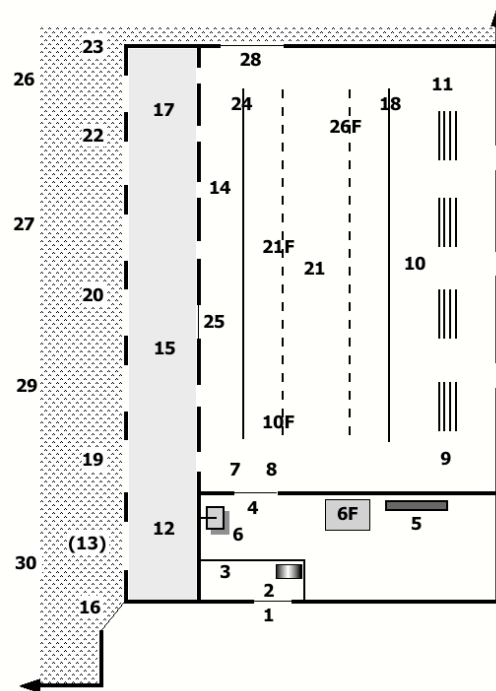
Beprobung Proben-Nr.	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX																								
	Umgebung	Vorraum						Masthalle												Wintergarten			Lüftung	Trinkwasser		Einstreu	Futter						
	1																																
	2																																
	3																																
	4																																
	5																																
	6																																
	7																																
	8																																
	9																																
	10																																
	11																																
	14																																
	16																																
	19																																
	20																																
	22																																
	23																																
	25																																
	27																																
	28																																
	29																																
	30																																
	12																																
	15																																
	17																																
	13																																
	18																																
	24																																
	26																																
	21																																
	6F																																
	10F																																
	21F																																
	26F																																

Abbildung 15: Verteilung der *Campylobacter*-positiven Proben (dunkel eingefärbt) im BTS-Betrieb C.



Beprobung Proben-Nr.		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV		
		1															
		Umgebung															
		Vorraum															
		Masthalle															
		Wintergarten															
		Ungeziefer															
		Trinkwasser															
		Freiland															
		Einstreu															
		Futter															

Abbildung 16: Verteilung der *Campylobacter*-positiven Proben (dunkel eingefärbt) im Freiland-Betrieb H.



Beprobung Proben-Nr.		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII	XIV		
Umgebung		1															
Vorraum		2															
		3															
		4															
		5															
		6															
		7															
Masthalle		8															
		9															
		10															
		11															
		14															
		25															
Wintergarten		28															
		12															
		15															
Ungeziefer		17															
		13															
		18															
Trinkwasser		24															
		16															
		19															
Freiland		20															
		22															
		23															
		26															
		27															
		29															
Einstreu		30															
		21															
		6F															
Futter		10F															
		21F															
		26F															

Abbildung 17: Verteilung der *Campylobacter*-positiven Proben (dunkel eingefärbt) im Freiland-Betrieb I.

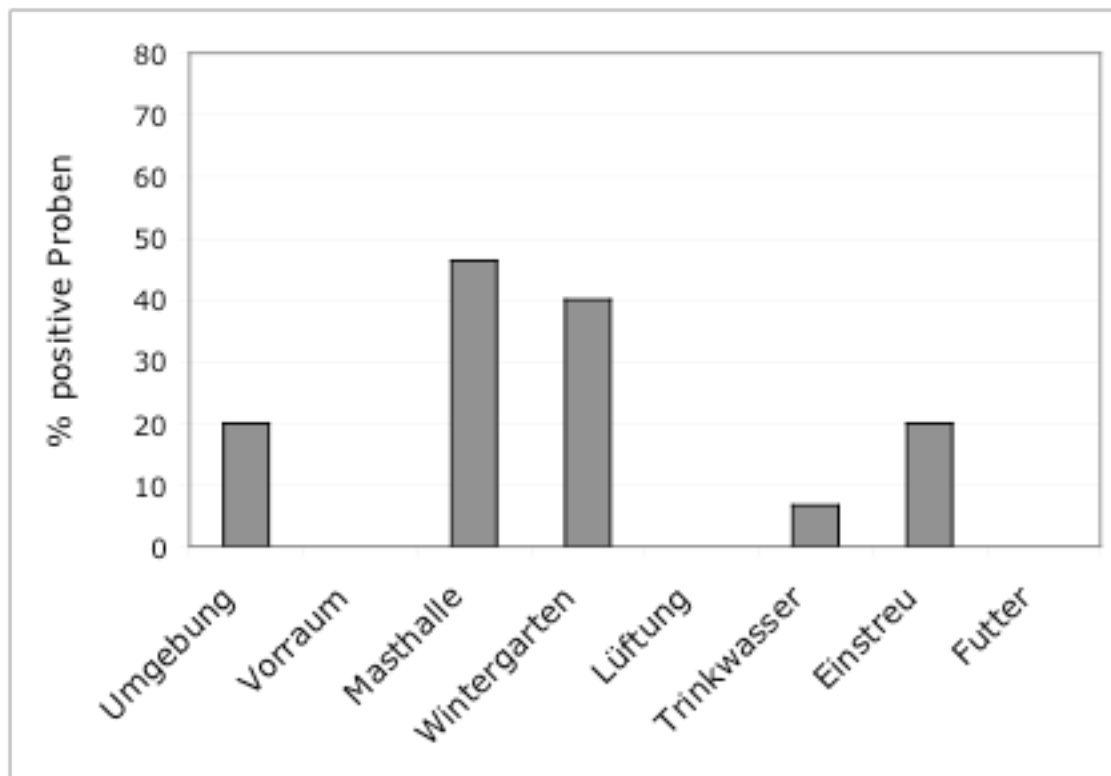


Abbildung 18: Anteil *Campylobacter*-positiver Proben in den BTS-Betrieben (n = 3) ab dem Zeitpunkt, an dem die Betriebe erstmals positiv getestet wurden, geordnet nach Kompartimenten.

Umgebung:	n = 5
Vorraum:	n = 25
Masthalle:	n = 80
Wintergarten:	n = 15
Lüftung:	n = 5
Trinkwasser:	n = 15
Einstreu:	n = 5
Futter:	n = 20

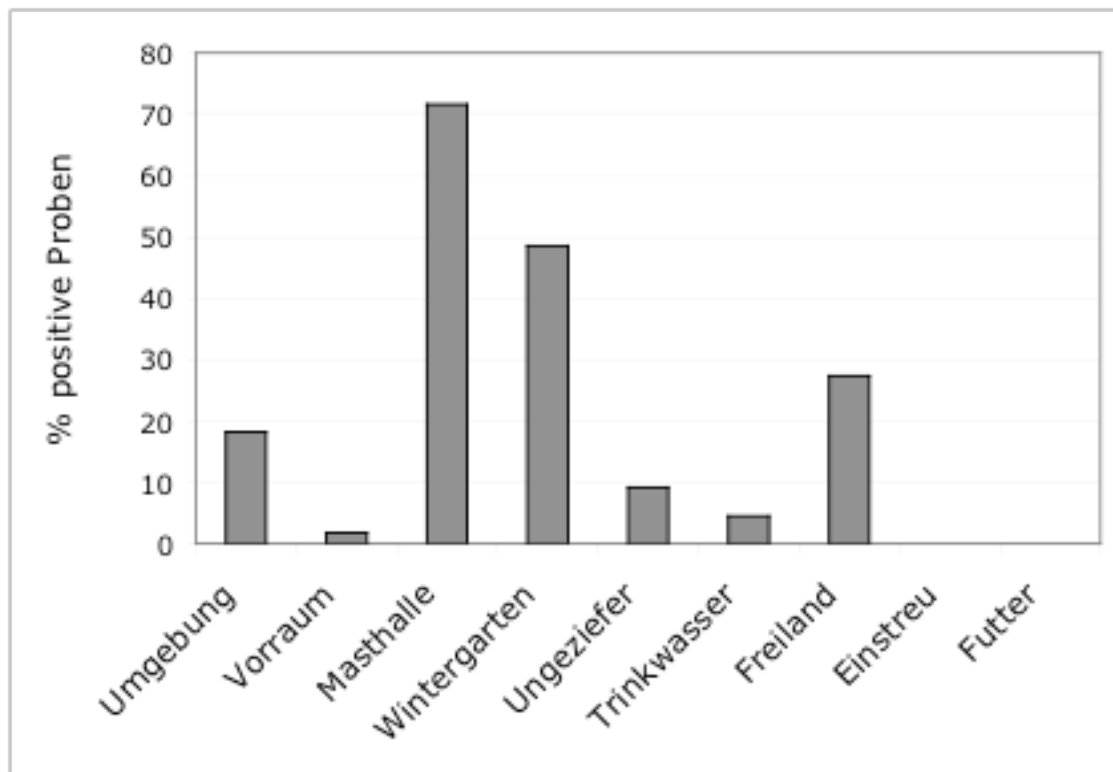


Abbildung 19: Anteil *Campylobacter*-positiver Proben in den Freiland-Betrieben (n = 2) ab dem Zeitpunkt, an dem die Betriebe erstmals positiv getestet wurden, geordnet nach Kompartimenten.

Umgebung:	n = 11
Vorraum:	n = 55
Masthalle:	n = 88
Wintergarten:	n = 33
Ungeziefer:	n = 11
Trinkwasser:	n = 22
Freiland:	n = 99
Einstreu:	n = 11
Futter:	n = 44

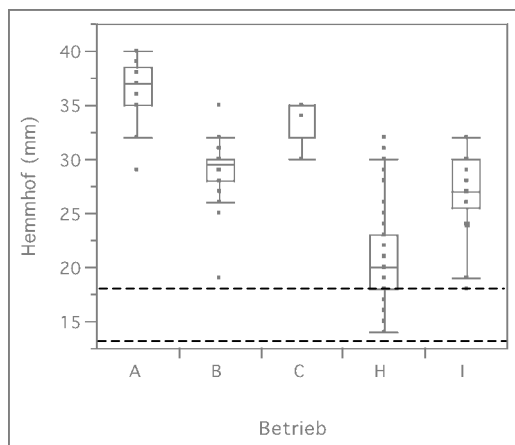


Abbildung 20a: Amoxicillin

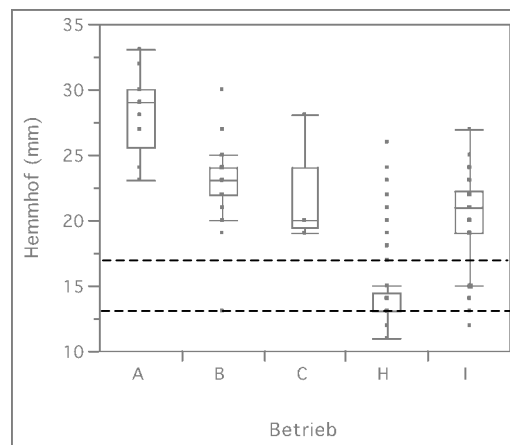


Abbildung 20b: Ampicillin

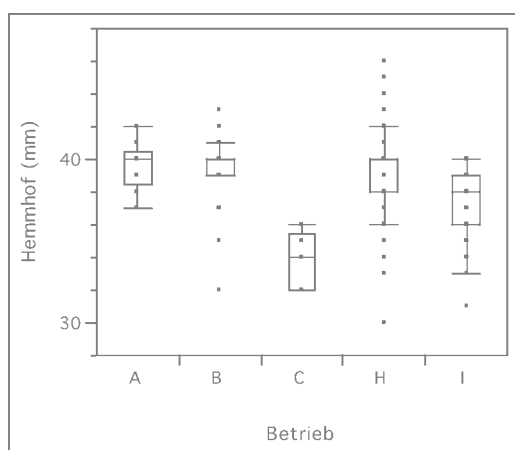


Abbildung 20c: Chloramphenicol

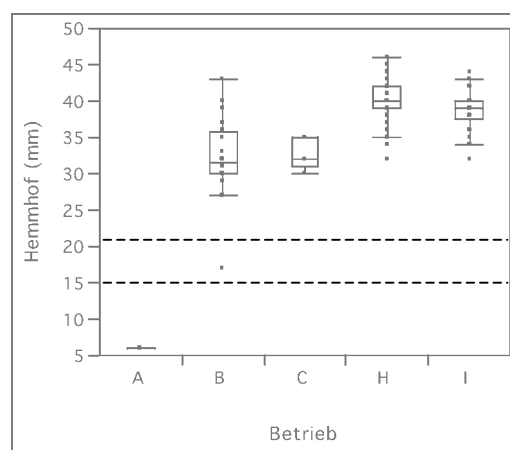


Abbildung 20d: Ciprofloxacin

Abbildungen 20a-h: Antibiotika-Resistenzprofile der 157 *C. jejuni*-Stämme, ermittelt im Plättchen-Agardiffusionstest. Die Hemmhoft-Durchmesser (mm) sind als 10%-, 25%-Quantile, Median, 75%-, 90%-Quantile und Extremwerte dargestellt. Wo die Skala es erlaubt, bezeichnen gestrichelte Linien die Grenzwerte aus Tabelle 4 zur Beurteilung der Resistenz nach NCCLS (NCCLS, 1999).

Die Anzahl Proben in den Betrieben war:

A: n = 13; B: n = 28; C: n = 5; H: n = 81; I: n = 30.

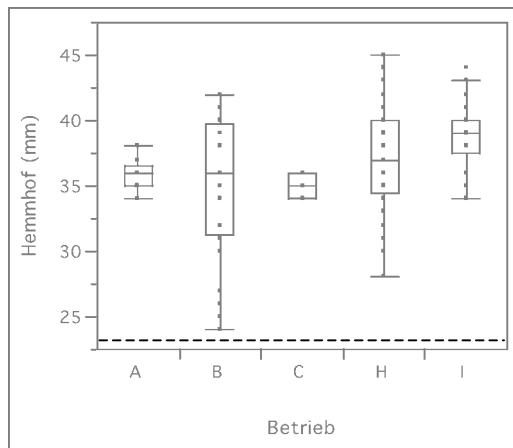


Abbildung 20e: Erythromycin

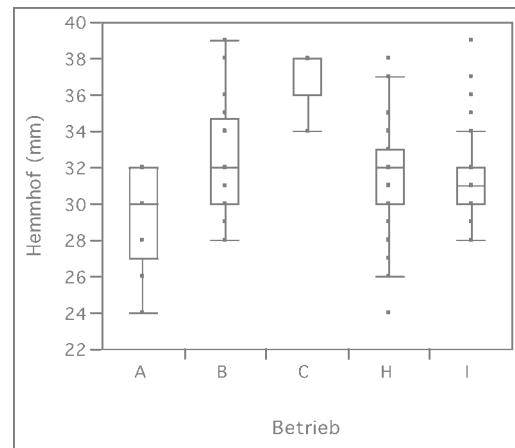


Abbildung 20f: Gentamicin

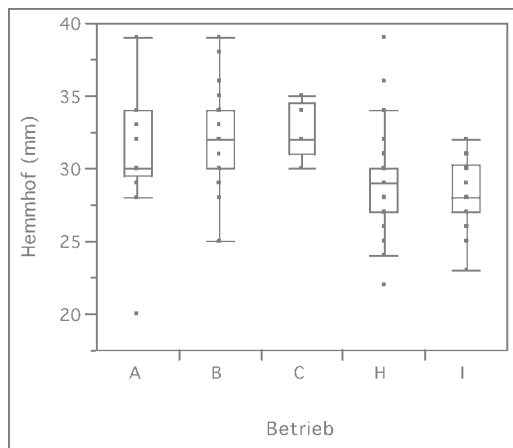


Abbildung 20g: Streptomycin

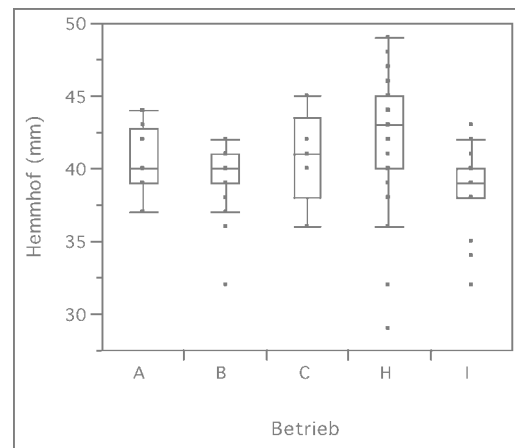


Abbildung 20h: Tetracyclin

Abbildungen 20a-h: Fortsetzung

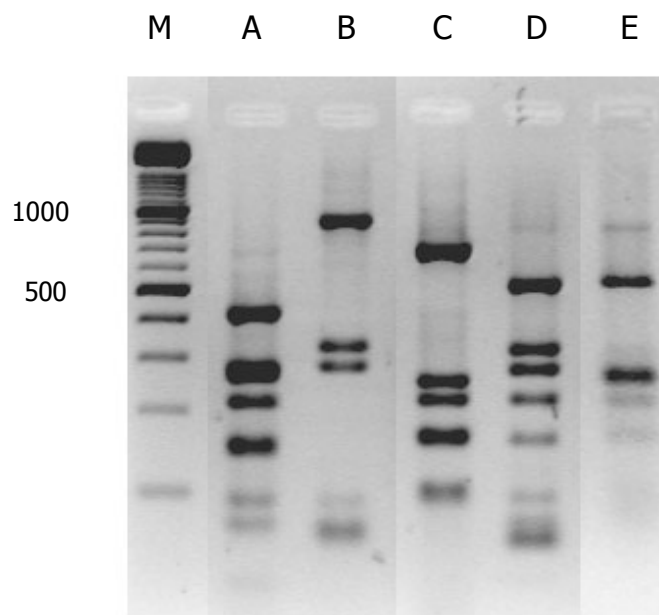


Abbildung 21: Restriktionsfragment-Muster der fünf RFLP-Typen im *fla*-typing (*DdeI*).
Linie 1: Marker (100 bp)
Linien 2 – 6: RFLP-Typen A – E

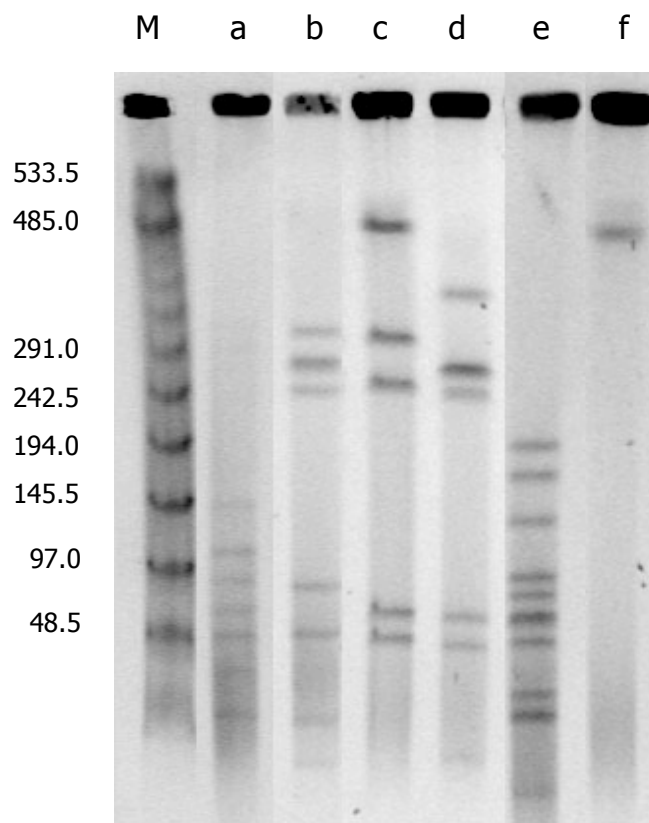


Abbildung 22: Makrorestriktionsprofile der sechs PFGE-Typen (*Sma*I).
Linie 1: Marker (ca. 50 kb)
Linien 2 – 7: PFGE-Typen a - f

8 Literatur

- Aarestrup, F. M., E. M. Nielsen, M. Madsen, and J. Engberg. 1997. Antimicrobial susceptibility patterns of thermophilic *Campylobacter* spp. from humans, pigs, cattle, and broilers in Denmark. *Antimicrob. Agents Chemother.* 41:2244-2250.
- Achen, M., T. Y. Morishita, and E. C. Ley. 1998. Shedding and colonization of *Campylobacter jejuni* in broilers from day-of-hatch to slaughter age. *Avian Dis.* 42:732-737.
- Alfredson, D. A., R. J. Akhurst, and V. Korolik. 2003. Antimicrobial resistance and genomic screening of clinical isolates of thermophilic *Campylobacter* spp. from south-east Queensland, Australia. *J. Appl. Microbiol.* 94:495-500.
- Ali, A. M., A. H. Qureshi, S. Rafi, E. Roshan, I. Khan, A. M. Malik, and S. A. Shahid. 2003. Frequency of *Campylobacter jejuni* in diarrhoea/dysentery in children in Rawalpindi and Islamabad. *J. Pak. Med. Assoc.* 53:517-520.
- Allen, K. J., and M. W. Griffiths. 2001. Use of luminescent *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 to assess eggshell colonization and penetration in fresh and retail eggs. *J. Food Prot.* 64:2058-2062.
- Altekruse, S. F., N. J. Stern, P. I. Fields, and D. L. Swerdlow. 1999. *Campylobacter jejuni* – An emerging foodborne pathogen. *Emerg. Infect. Dis.* 5:28-35.
- Annan-Prah, A., and M. Janc. 1988. The mode of spread of *Campylobacter jejuni/coli* to broiler flocks. *Zentralbl. Veterinarmed. B.* 35:11-18.
- Atanassova, V., and C. Ring. 1999. Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry and poultry meat in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 51:187-190.
- Atterbury, R. J., P. L. Connerton, C. E. R. Dodd, C. E. D. Rees, and I. F. Connerton. 2003. Application of host-specific bacteriophages to the surface of chicken skin leads to a reduction in recovery of *Campylobacter jejuni*. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 6302-6306.
- Avrain, L., F. Humbert, R. L'Hospitalier, P. Sanders, C. Vernozy-Rozand, and I. Kempf. 2003. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers: association with production type and antimicrobial use. *Vet. Microbiol.* 96:267-276.
- Ayling, R. D., M. J. Woodward, S. Evans, and D. G. Newell. 1996. Restriction fragment length polymorphism of polymerase chain reaction products applied to the differentiation of poultry campylobacters for epidemiological investigations. *Res. Vet. Sci.* 60:168-172.
- BAG. 2003. Zum Umgang mit rohem Fleisch im Privathaushalt. Bundesamt für Gesundheit, Bern.
- BAG. 2004. *Campylobacter* und *Salmonella* – Stand Ende 2003. Bundesamt für Gesundheit, Bulletin 40:737-740.

- Bates, C., K. L. Hiett, and N. J. Stern. 2004. Relationship of *Campylobacter* isolated from poultry and from darkling beetles in New Zealand. *Avian Dis.* 48:138-147.
- Berndtson, E., M. L. Danielsson-Tham, and A. Engvall. 1996a. *Campylobacter* incidence on a chicken farm and the spread of *Campylobacter* during the slaughter process. *Int. J. Food Microbiol.* 32: 35-47.
- Berndtson, E., U. Emanuelson, A. Engvall, and M.-L. Danielsson-Tham. 1996b. A 1-year epidemiological study of campylobacters in 18 Swedish chicken farms. *Prev. Vet. Med.* 26:167-185.
- Berrang, M. E., R. J. Buhr, J. A. Cason, and J. A. Dickens. 2002. Microbiological consequences of skin removal prior to evisceration of broiler carcasses. *Poult. Sci.* 81:134-138.
- Boch, J., and R. Supperer. 1983. *Veterinärmedizinische Parasitologie*. 3. Aufl., Paul Parey Verlag, Berlin / Hamburg.
- Bouwknegt, M., A. W. van de Giessen, W. D. C. Dam-Deisz, A. H. Havelaar, N. J. D. Nagelkerke, and A. M. Henken. 2004. Risk factors for the presence of *Campylobacter* spp. in Dutch broiler flocks. *Prev. Vet. Med.* 62:35-49.
- Broman, T., H. Palmgren, S. Bergström, M. Sellin, J. Waldenström, M. L. Danielsson-Tham, and B. Olsen. 2002. *Campylobacter jejuni* in black-headed gulls (*Larus ridibundus*): prevalence, genotypes, and influence on *C. jejuni* epidemiology. *J. Clin. Microbiol.* 40:4594-4602.
- Broman, T., J. Waldenström, D. Dahlgren, I. Carlsson, I. Eliasson, and B. Olsen. 2004. Diversities and similarities in PFGE profiles of *Campylobacter jejuni* isolated from migrating birds and humans. *J. Appl. Microbiol.* 96:834-843.
- Brown, P. E., O. F. Christensen, H. E. Clough, P. J. Diggle, C. A. Hart, S. Hazel, R. Kemp, A. J. H. Leatherbarrow, A. Moore, J. Sutherst, J. Turner, N. J. Williams, E. J. Wright, and N. P. French. 2004. Frequency and spatial distribution of environmental *Campylobacter* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:6501-6511.
- Buhr, R. J., N. A. Cox, N. J. Stern, M. T. Musgrove, J. L. Wilson, and K. L. Hiett. 2002. Recovery of *Campylobacter* from segments of the reproductive tract of broiler breeder hens. *Avian Dis.* 46:919-924.
- Butzler, J. P. 2004. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin. Microbiol. Infect.* 10:868-876.
- BVET. 2004. Schweizer Zoonosebericht 2003. *BVET-Magazin* 3/2004, Bundesamt für Veterinärwesen, Bern.
- Bywater, R., H. Deluyker, E. Deroover, A. de Jong, H. Marion, M. McConville, T. Rowan, T. Shryock, D. Shuster, V. Thomas, M. Vallé, and J. Walters. 2004. A European survey of antimicrobial susceptibility among zoonotic and commensal bacteria isolated from food-producing animals. *J. Antimicrob. Chemother.* 54:744-754.

Camarda, A., D. G. Newell, R. Nasti, and G. di Modugno. 2000. Genotyping *Campylobacter jejuni* strains isolated from the gut and oviduct of laying hens. *Avian Dis.* 44:907-912.

CAMPYNET. <http://campynet.vetinst.dk/>

Cardinale, E., F. Tall, E. F. Guèye, M. Cisse, and G. Salvat. 2004. Risk factors for *Campylobacter* spp. infection in Senegalese broiler-chicken flocks. *Prev. Vet. Med.* 64:15-25.

Cawthraw, S., R. Ayling, P. Nuijten, T. Wassenaar, and D. G. Newell. 1994. Isotype, specificity, and kinetics of systemic and mucosal antibodies to *Campylobacter jejuni* antigens, including flagellin, during experimental oral infections of chickens. *Avian Dis.* 38:341-349.

Chaveerach, P., D. A. Keuzenkamp, H. A. Urlings, L. J. Lipman, and F. van Knapen. 2002. In vitro study on the effect of organic acids on *Campylobacter jejuni/coli* populations in mixtures of water and feed. *Poult. Sci.* 81:621-628.

Chu, Y.-W., M.-Y. Chu, K.-Y. Luey, Y.-W. Ngan, K.-L. Tsang, and K.-M. Kam. 2004. Genetic relatedness and quinolone resistance of *Campylobacter jejuni* strains isolated in 2002 in Hong Kong. *J. Clin. Microbiol.* 42:3321-3323.

Chu, G., D. Vollrath, and R. W. Davis. 1986. Separation of large DNA molecules by contour-clamped homogeneous electric fields. *Science* 234:1582-1585.

Clark, A. G., and D. H. Bueschgens. 1985. Laboratory infection of chicken eggs with *Campylobacter jejuni* by using temperature or pressure differentials. *Appl. Environ. Microbiol.* 49:1467-1471.

Colles, F. M., K. Jones, R. M. Harding, and M. C. J. Maiden. 2003. Genetic diversity of *Campylobacter jejuni* isolates from farm animals and the farm environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:7409-7413.

Connerton, P. L., C. M. Loc Carrillo, C. Swift, E. Dillon, A. Scott, C. E. D. Rees, C. E. R. Dodd, J. Frost, and I. F. Connerton. 2004. Longitudinal study of *Campylobacter jejuni* bacteriophages and their hosts from broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:3877-3883.

Corrier, D. E., C. W. Purdy, and J. R. DeLoach. 1990. Effects of marketing stress on fecal excretion of *Salmonella* spp. in feeder calves. *Am. J. Vet. Res.* 51:866-869.

Cox, N. A., N. J. Stern, K. L. Hiett, and M. E. Berrang. 2002a. Identification of a new source of *Campylobacter* contamination in poultry: transmission from breeder hens to broiler chickens. *Avian Dis.* 46:535-541.

Cox, N. A., N. J. Stern, J. L. Wilson, M. T. Musgrove, R. J. Buhr, and K. L. Hiett. 2001. Isolation of *Campylobacter* from semen samples of commercial 50 week old parent roosters. *Int. J. Med. Microbiol.* 291:39.

Cox, N. A., N. J. Stern, J. L. Wilson, M. T. Musgrove, R. J. Buhr, and K. L. Hiett. 2002b. Isolation of *Campylobacter* spp. from semen samples of commercial broiler breeder roosters. *Avian Dis.* 46:717-720.

- Damborg, P., K. E. P. Olsen, E. Møller Nielsen, and L. Guardabassi. 2004. Occurrence of *Campylobacter jejuni* in pets living with human patients infected with *C. jejuni*. J. Clin. Microbiol. 42:1363-1364.
- De Boer, P., B. Duim, A. Rigter, J. van der Plas, W. F. Jacobs-Reitsma, and J. A. Wagenaar. 2000. Computer-assisted analysis and epidemiological value of genotyping methods for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. J. Clin. Microbiol. 38:1940-1946.
- Dedié, K., J. Bockemühl, H. Kühn, K.-J. Volkmer, and T. Weinke. 1993. Bakterielle Zoonosen bei Tier und Mensch. Enke Verlag. Stuttgart.
- Dedieu, L., J.-M. Pagès, and J.-M. Bolla. 2004. Use of the *omp50* gene for identification of *Campylobacter* species by PCR. J. Clin. Microbiol. 42:2301-2305.
- Doyle, M. P. 1984. Association of *Campylobacter jejuni* with laying hens and eggs. Appl. Environ. Microbiol. 47:533-536.
- Doyle, M. P., and D. J. Roman. 1982. Sensitivity of *Campylobacter jejuni* to drying. J. Food Prot. 45:507-510.
- Dufrenne, J., W. Ritmeester, E. Delfgou-van Asch, F. van Leudsen, and R. de Jonge. 2001. Quantification of the contamination of chicken and chicken products in the Netherlands with *Salmonella* and *Campylobacter*. J. Food Prot. 64:538-541.
- Duim, B., P. C. R. Godschalk, N. van den Braak, K. E. Dingle, J. R. Dijkstra, E. Leyde, J. van der Plas, F. M. Colles, H. P. Endtz, J. A. Wagenaar, M. C. J. Maiden, and A. van Belkum. 2003. Molecular evidence for dissemination of unique *Campylobacter jejuni* clones in Curaçao, Netherlands Antilles. J. Clin. Microbiol. 41:5593-5597.
- Endtz, H. P., H. van West, P. C. R. Godschalk, L. de Haan, Y. Halabi, N. van den Braak, B. I. Kesztyüs, E. Leyde, A. Ott, R. Verkooyen, L. J. Price, D. L. Woodward, F. G. Rodgers, C. W. Ang, R. van Koningsveld, A. van Belkum, and I. Gerstenbluth. 2003. Risk factors associated with *Campylobacter jejuni* infections in Curaçao, Netherlands Antilles. J. Clin. Microbiol. 41:5588-5592.
- Engberg, J., F. M. Aarestrup, D. E. Taylor, P. Gerner-Smidt, and I. Nachamkin. 2001. Quinolone and macrolid resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. Emerg. Infect. Dis. 7:24-34.
- Engberg, J., S. Andersen, R. Skov, F. M. Aarestrup, and P. Gerner-Smidt. 1999. Comparison of two agar dilution methods and three agar diffusion methods, including the E-test, for antibiotic susceptibility testing of thermophilic *Campylobacter* species. Clin. Microbiol. Infect. 5:580-584.
- Ertas, H. B., B. Çetinkaya, A. Muz, and H. Öngör. 2004. Genotyping of broiler-originated *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates using *fla* typing and random amplified polymorphic DNA methods. Int. J. Food Microbiol. 94:203-209.

- Evans, S. J. 1992. Introduction and spread of thermophilic *Campylobacters* in broiler flocks. Vet. Rec. 131:574-576.
- Evans, S. J., and A. R. Sayers. 2000. A longitudinal study of *Campylobacter* infection of broiler flocks in Great Britain. Prev. Vet. Med. 46:209-223.
- Fallon, R., N. O'Sullivan, M. Maher, and C. Carroll. 2003. Antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from broiler chickens isolated at an Irish poultry processing plant. Lett. Appl. Microbiol. 36:277-281.
- Frediani-Wolf, V., and R. Stephan. 2003. Resistance patterns of *Campylobacter* spp. strains isolated from poultry carcasses in a big Swiss poultry slaughterhouse. Int. J. Food Microbiol. 89:233-240.
- Gaudreau, C., and H. Gilbert. 1997. Comparison of disc diffusion and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* and *Campylobacter coli*. J. Antimicrob. Chemother. 39:707-712.
- Gibbens, J. C., S. J. S. Pascoe, S. J. Evans, R. H. Davies, and A. R. Sayers. 2001. A trial of biosecurity as a means to control *Campylobacter* infection of broiler chickens. Prev. Vet. Med. 48:85-99.
- Gibson, J. R., C. Fitzgerald, and R. J. Owen. 1995. Comparison of PFGE, ribotyping and phage-typing in the epidemiological analysis of *Campylobacter jejuni* serotype HS2 infections. Epidemiol. Infect. 115:215-225.
- Gibson, J. R., K. Sutherland, and R. J. Owen. 1994. Inhibition of DNase activity in PFGE analysis of DNA from *Campylobacter jejuni*. Lett. Appl. Microbiol. 19:357-358.
- Gregory, E., H. Barnhart, D. W. Dreesen, N. J. Stern, and J. L. Corn. 1997. Epidemiological study of *Campylobacter* spp. in broilers: source, time of colonization, and prevalence. Avian Dis. 41:890-898.
- Gupta, A., J. M. Nelson, T. J. Barrett, R. V. Tauxe, S. P. Rossiter, C. R. Friedman, K. W. Joyce, K. E. Smith, T. F. Jones, M. A. Hawkins, B. Shiferaw, J. L. Beebe, D. J. Vugia, T. Rabatsky-Ehr, J. A. Benson, T. P. Root, and F. J. Angulo. Antimicrobial resistance among *Campylobacter* strains, United States, 1997-2001. Emerg. Infect. Dis. 10:1102-1109.
- Hüsler, J., and H. Zimmermann. 2000. Statistische Prinzipien für medizinische Projekte. 3. Aufl., Verlag Hans Huber, Bern.
- Hald, B., K. Pedersen, M. Wainø, J. C. Jørgensen, and M. Madsen. 2004a. Longitudinal study of the excretion patterns of thermophilic *Campylobacter* spp. in young pet dogs in Denmark. J. Clin. Microbiol. 42:2003-2012.
- Hald, B., H. Skovgård, D. D. Bang, K. Pedersen, J. Dybdahl, J. B. Jespersen, and M. Madsen. 2004b. Flies and *Campylobacter* Infection of Broiler Flocks. Emerg. Infect. Dis. 10:1490-1492.

- Hänninen, M.-L., H. Haajanen, T. Pummi, K. Wermundsen, M.-L. Katila, H. Sarkkinen, I. Miettinen, and H. Rautelin. 2002. Detection and typing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* and analysis of indicator organisms in three waterborne outbreaks in Finland. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:1391-1396.
- Hänninen, M.-L., P. Perko-Mäkelä, A. Pitkälä, and H. Rautelin. 2000. A three-year study of *Campylobacter jejuni* genotypes in humans with domestically acquired infections and in chicken samples from the Helsinki area. *J. Clin. Microbiol.* 38:1998-2000.
- Harrington, C. S., L. Moran, A. M. Ridley, D. G. Newell, and R. H. Madden. 2003. Inter-laboratory evaluation of three flagellin PCR/RFLP methods for typing *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: the CAMPYNET experience. *J. Appl. Microbiol.* 95:1321-1333.
- Hein, I., C. Scheck, M. Knogler, G. Feierl, P. Pless, J. Kofer, R. Achmann, and M. Wagner. 2003. *Campylobacter jejuni* isolated from poultry and humans in Styria, Austria: epidemiology and ciprofloxacin resistance. *Epidemiol. Infect.* 130:377-386.
- Heres, L., B. Engel, H. A. Urlings, J. A. Wagenaar, and F. van Knapen. 2004. Effect of acidified feed on susceptibility of broiler chickens to intestinal infection by *Campylobacter* and *Salmonella*. *Vet. Microbiol.* 99:259-267.
- Heuer, O. E., K. Pedersen, J. S. Andersen, and M. Madsen. 2001. Prevalence and antimicrobial susceptibility of thermophilic *Campylobacter* in organic and conventional broiler flocks. *Lett. Appl. Microbiol.* 33:269-274.
- Hiett, K. L., N. A. Cox, R. J. Buhr, and N. J. Stern. 2002a. Genotype analysis of *Campylobacter* isolated from distinct segments of the reproductive tracts of broiler breeder hens. *Curr. Microbiol.* 45:400-404.
- Hiett, K. L., G. R. Siragusa, N. A. Cox, R. J. Buhr, M. T. Musgrove, N. J. Stern, and J. L. Wilson. 2003. Genotype analysis of *Campylobacter* isolated from the gastrointestinal tracts and the reproductive tracts of broiler breeder roosters. *Avian Dis.* 47:406-414.
- Hiett, K. L., N. J. Stern, J. Bailey, P. Fedorka-Clay, N. Cox, S. Craven, M. T. Musgrove, and S. Ladely. 2001. Molecular subtype analysis of *Campylobacter* spp. in selected United States poultry production and processing operations. *Int. J. Med. Microbiol.* 291:42.
- Hiett, K. L., N. J. Stern, P. Fedorka-Cray, N. A. Cox, M. T. Musgrove, and S. Ladely. 2002b. Molecular subtype analysis of *Campylobacter* spp. from Arkansas and California poultry operations. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:6220-6236.
- Hörman, A., R. Rimhanen-Finne, L. Maunula, C.-H. von Bonsdorff, N. Torvela, A. Heikinheimo, and M.-L. Hänninen. 2003. *Campylobacter* spp., *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp., Noroviruses, and indicator organisms in surface water in southwestern Finland, 2000-2001. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:87-95.

Humphrey, T. J., A. Henley, and D. G. Lanning. 1993. The colonization of broiler chickens with *Campylobacter jejuni*: some epidemiological investigations. *Epidemiol. Infect.* 110:601-607.

Ishihara, K., T. Kira, K. Ogikubo, A. Morioka, A. Kojima, M. Kijima-Tanaka, T. Takahashi, and Y. Tamura. 2004. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* isolated from food-producing animals of farms (1999-2000): results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *Int. J. Antimicrob. Agents* 24:63-69.

Jacobs-Reitsma, W. F. 1994. Epidemiology of *Campylobacter* in poultry. PhD-Thesis. Agricultural University Wageningen, The Netherlands.

Jacobs-Reitsma, W. F. 1995. *Campylobacter* bacteria in breeder flocks. *Avian Dis.* 39:355-359.

Jacobs-Reitsma, W. F. 1997. Aspects of epidemiology of *Campylobacter* in poultry. *Vet. Q.* 19:113-117.

Jacobs-Reitsma, W. F., A. W. van de Giessen, N. M. Bolder, and R. W. Mulder. 1995. Epidemiology of *Campylobacter* spp. at two Dutch broiler farms. *Epidemiol. Infect.* 114:413-421.

Jørgensen, F., R. Bailey, S. Williams, P. Henderson, D. R. A. Wareing, F. J. Bolton, J. A. Frost, L. Ward, and T. J. Humphrey. 2002. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *Int. J. Food Microbiol.* 76:151-164.

Josefsen, M. H., N. Cook, M. D'Agostino, F. Hansen, M. Wagner, K. Demnerova, A. E. Heuvelink, P. T. Tassios, H. Lindmark, V. Kmet, M. Barbanera, P. Fach, S. Loncarevic, and J. Hoorfar. 2004a. Validation of a PCR-based method for detection of food-borne thermotolerant *Campylobacters* in a multicenter collaborative trial. 2004. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:4379-4383.

Josefsen, M. H., N. R. Jacobsen, and J. Hoorfar. 2004b. Enrichment followed by quantitative PCR both for rapid detection and as a tool for quantitative risk assessment of food-borne thermotolerant *Campylobacters*. *Appl. Environ. Microbiol.* 70:3588-3592.

Kapperud, G., G. Espeland, E. Wahl, A. Walde, H. Herikstad, S. Gustavsen, I. Tveit, O. Natås, L. Bevanger, and A. Digranes. 2003. Factors associated with increased and decreased risk of *Campylobacter* infection: a prospective case-control study in Norway. *Am. J. Epidemiol.* 158:234-242.

Kapperud, G., E. Skjerve, N. H. Bean, S. M. Ostroff, and J. Lassen. 1992. Risk factors for sporadic *Campylobacter* infections: results of a case-control study in southeastern Norway. *J. Clin. Microbiol.* 30:3117-3121.

Kapperud, G., E. Skjerve, L. Vik, K. Hauge, A. Lysaker, I. Almen, S. M. Ostroff, and M. Potter. 1993. Epidemiological investigation of risk factors for *Campylobacter* colonization in Norwegian broiler flocks. *Epidemiol. Infect.* 111:245-255.

- Kärenlampi, R., H. Rautelin, M. Hakkinen, and M.-L. Hänninen. 2003. Temporal and geographical distribution and overlap of Penner heat-stable serotypes and Pulsed-Field Gel Electrophoresis genotypes of *Campylobacter jejuni* isolates collected from humans and chickens in Finland during a seasonal peak. *J. Clin. Microbiol.* 41:4870-4872.
- Keener, K. M., M. P. Bashor, P. A. Curtis, B. W. Sheldon, and S. Kathariou. 2004. Comprehensive review of *Campylobacter* and poultry processing. *Inst. Food Technologists, Comp. Rev. Food Sci. Food Safety* 3:105-116.
- Keramas, G., D. D. Bang, M. Lund, M. Madsen, H. Bunkenborg, P. Telleman, and C. B. V. Christensen. 2004. Use of culture, PCR analysis, and DNA microarrays for detection of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from chicken feces. *J. Clin. Microbiol.* 42:3985-3991.
- Khoury, C. A., and R. J. Meinersmann. 1995. A genetic hybrid of the *Campylobacter jejuni* *flaA* gene with LT-B of *Escherichia coli* and assessment of the efficacy of the hybrid protein as an oral chicken vaccine. *Avian Dis.* 39:812-820.
- King, E. O. 1962. The laboratory recognition of *Vibrio fetus* as a closely related *Vibrio* isolated from cases of human vibriosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 98:700-711.
- Koenraad, P. M., R. Ayling, W. C. Hazeleger, F. M. Rombouts, and D. G. Newell. 1995. The speciation and subtyping of *Campylobacter* isolates from sewage plants and waste water from a connected poultry abattoir using molecular techniques. *Epidemiol. Infect.* 115:485-494.
- Kramer, J. M., J. A. Frost, F. J. Bolton, and D. R. Wareing. 2000. *Campylobacter* contamination of raw meat and poultry at retail sale: identification of multiple types and comparison with isolates from human infection. *J. Food Prot.* 63:1654-1659.
- Lachance, N., C. Gaudreau, F. Lamothe, and L. A. Larivière. 1991. Role of the β -lactamase of *Campylobacter jejuni* in resistance to β -lactam agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 25:813-818.
- Lachance, N., C. Gaudreau, F. Lamothe, and F. Turgeon. 1993. Susceptibilities of β -lactamase-positive and -negative strains of *Campylobacter coli* to β -lactam agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37:1174-1176.
- Lindmark, H., B. Harbom, L. Thebo, L. Andersson, G. Hedin, B. Osterman, T. Lindberg, Y. Andersson, A. Westöö, and E. Olsson Engvall. 2004. Genetic characterization and antibiotic resistance of *Campylobacter jejuni* isolated from meats, water, and humans in Sweden. *J. Clin. Microbiol.* 42:700-706.
- Line, J. E., J. S. Bailey, N. A. Cox, and N. J. Stern. 1997. Yeast treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* populations associated with broiler chickens subjected to transport stress. *Poult. Sci.* 76:1227-1231.

- Luber, P., E. Bartelt, E. Genschow, J. Wagner, and H. Hahn. 2003a. Comparison of broth microdilution, E Test, and agar dilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. J. Clin. Microbiol. 41:1062-1068.
- Luber, P., J. Wagner, H. Hahn, and E. Bartelt. 2003b. Antimicrobial resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains isolated in 1991 and 2001-2002 from poultry and humans in Berlin, Germany. Antimicrob. Agents and Chemother. 47:3825-3830.
- Luechtefeld, N. W., W. L. Wang, M. J. Blaser, and L. Reller. 1981. Evaluation of transport and storage techniques for isolation of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* from turkey cecal specimens. J. Clin. Microbiol. 13:438-443.
- Lund, M., S. Nordentoft, K. Pedersen, and M. Madsen. 2004. Detection of *Campylobacter* spp. in chicken fecal samples by real-time PCR. J. Clin. Microbiol. 42:5125-5132.
- Lund, M., A. Wedderkopp, M. Wainø, S. Nordentoft, D. D. Bang, K. Pedersen, and M. Madsen. 2003. Evaluation of PCR for detection of *Campylobacter* in a national broiler surveillance programme in Denmark. J. Appl. Microbiol. 94:929-935.
- McAllister, J. C., C. D. Steelman, and J. K. Skeeles. 1994. Reservoir competence of the lesser mealworm (*Coleoptera: Tenebrionidae*) for *Salmonella typhimurium* (*Eubactales: Enterobacteriaceae*). J. Med. Entomol. 31:369-372.
- McOrist, S., and G. T. Miller. 1981. Salmonellosis in transported feral goats. Aust. Vet. J. 57:389-390.
- Meldrum, R. J., D. Tucker, and C. Edwards. 2004. Baseline rates of *Campylobacter* and *Salmonella* in raw chicken in Wales, United Kingdom, in 2002. J. Food Prot. 67:1226-1228.
- Mellmann, A., J. Mosters, E. Bartelt, P. Roggentin, A. Ammon, A. W. Friedrich, H. Karch, and D. Harmsen. 2004. Sequence-based typing of *flaB* is a more stable screening tool than typing of *flaA* for monitoring of *Campylobacter* populations. J. Clin. Microbiol. 42:4840-4842.
- Michaud, S., S. Menard, C. Gaudreau, and R. D. Arbeit. 2001. Comparison of *Sma* I-defined genotypes of *Campylobacter jejuni* examined by *Kpn* I: a population-based study. J. Med. Microbiol. 50:1075-1081.
- Nachamkin, I., H. Ung, and M. Li. 2002. Increasing fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni*, Pennsylvania, USA, 1982-2001. Emerg. Infect. Dis. 8:1501-1503.
- Nachamkin, I., H. Ung, and C. M. Patton. 1996. Analysis of HL and O Serotypes of *Campylobacter* strains by the flagellin gene typing system. J. Clin. Microbiol. 34:277-281.
- NCCLS. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1999. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests – 6th ed.; approved standard. NCCLS Vol. 19 No 1. M2-A6, M100-S9.

- Neimann, J., J. Engberg, K. Molbak, and H. C. Wegener. 2003. A case-control study of risk factors for sporadic *Campylobacter* infections in Denmark. *Epidemiol. Infect.* 130:353-366.
- Newell, D. G., and C. Fearnley. 2003. Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:4343-4351.
- Newell, D. G., J. E. Shreeve, M. Toszeghy, G. Domingue, S. Bull, T. Humphrey, and G. Mead. 2001. Changes in the carriage of *Campylobacter* strains by poultry carcasses during processing in abattoirs. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:2636-2640.
- Nielsen, E. M., J. Engberg, and M. Madsen. 1997. Distribution of serotypes of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* from danish patients, poultry, cattle and swine. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 19:47-56.
- Norinaga, M., Y. Takegahara, K. Terai, H. Kato, and T. Takeuchi. 2003. *Campylobacter jejuni* contamination on broiler carcasses of *C. jejuni*-negative flocks during processing in a Japanese slaughterhouse. *Int. J. Food Microbiol.* 84:105-109.
- Nygård, K., Y. Andersson, J. A. Røttingen, Å. Svensson, J. Lindbäck, T. Kistemann, and J. Giesecke. 2004. Association between environmental risk factors and *Campylobacter* infections in Sweden. *Epidemiol. Infect.* 132:317-325.
- Nylen, G., F. Dunstan, S. R. Palmer, Y. Andersson, F. Bager, J. Cowden, G. Feierl, Y. Galloway, G. Kapperud, F. Megraud, K. Molbak, L. R. Petersen, and P. Ruutu. 2002. The seasonal distribution of *Campylobacter* infection in nine European countries and New Zealand. *Epidemiol. Infect.* 128:383-390.
- Owen, R. J., K. Sutherland, C. Fitzgerald, J. Gibson, P. Borman, and J. Stanley. 1995. Molecular subtyping scheme for serotypes HS1 and HS4 of *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.* 33:872-877.
- Oza, A. N., J. P. McKenna, S. W. J. McDowell, F. D. Menzies, and S. D. Neill. 2003. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* spp. isolated from broiler chickens in Northern Ireland. *J. Antimicrob. Chemother.* 52:220-223.
- Payne, R. E., M. D. Lee, D. W. Dreesen, and H. M. Barnhart. 1999. Molecular epidemiology of *Campylobacter jejuni* in broiler flocks using randomly amplified polymorphic DNA-PCR and 23S rRNA-PCR and role of litter in its transmission. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:260-263.
- Petersen, L., E. M. Nielsen, and S. L. W. On. 2001. Serotype and genotype diversity and hatchery transmission of *Campylobacter jejuni* in commercial poultry flocks. *Vet. Microbiol.* 82:141-154.
- Petersen, L., and S. L. W. On. 2000. Efficacy of flagellin gene typing for epidemiological studies of *Campylobacter jejuni* in poultry estimated by comparison with macrorestriction profiling. *Lett. Appl. Microbiol.* 31:14-19.
- Petersen, L., and A. Wedderkopp. 2001. Evidence that certain clones of *Campylobacter jejuni* persist during successive broiler flock rotations. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:2739-2745.

Pezzotti, G., A. Serafin, I. Luzzi, R. Mioni, M. Milan, and R. Perin. 2003. Occurrence and resistance to antibiotics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in animals and meat in northeastern Italy. *Int. J. Food Microbiol.* 82:281-287.

PulseNet. <http://www.cdc.gov/pulsenet/>

Ramabu, S. S., N. S. Boxall, P. Madie, and S. G. Fenwick. 2004. Some potential sources for transmission of *Campylobacter jejuni* to broiler chickens. *Lett. Appl. Microbiol.* 39:252-256.

Refrégier-Petton, J., N. Rose, M. Denis, and G. Salvat. 2001. Risk factors for *Campylobacter* spp. contamination in French broiler-chicken flocks at the end of the rearing period. *Prevent. Vet. Med.* 50:89-100.

Ribot, E. M., C. Fitzgerald, K. Kubota, B. Swaminathan, and T. J. Barrett. 2001. Rapid pulsed-field gel electrophoresis protocol for subtyping of *Campylobacter jejuni*. *J. Clin. Microbiol.* 39:1889-1894.

Rice, B. E., D. M. Rollins, E. T. Mallinson, L. Carr, and S. W. Joseph. 1997. *Campylobacter jejuni* in broiler chickens: colonization and humoral immunity following oral vaccination and experimental infection. *Vaccine* 15:1922-1932.

Rigby, C. E., and J. R. Pettit. 1980. Changes in the *Salmonella* status of broiler chickens subjected to simulated shipping conditions. *Can. J. Comp. Med.* 44:374-381.

Rodrigo, S., A. Adesiyun, Z. Asgarali, and W. Swanston. 2005. Prevalence of *Campylobacter* spp. on chickens from selected retail processors in Trinidad. *Food Microbiol.* 22:125-131.

Rönner, A.-C., E. Olsson Engvall, L. Andersson, and B. Kaijser. 2004. Species identification by genotyping and determination of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from humans and chickens in Sweden. *Int. J. Food Microbiol.* 96:173-179.

Sáenz, Y., M. Zarazaga, M. Lantero, M. J. Gastañares, F. Baquero, and C. Torres. 2000. Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and humans in Spain in 1997-1998. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:267-271.

Sahin, O., P. Kobalka, and Q. Zhang. 2003. Detection and survival of *Campylobacter* in chicken eggs. *J. Appl. Microbiol.* 95:1070-1079.

Sahin, O., N. Luo, S. Huang, and Q. Zhang. 2003. Effect of *Campylobacter*-specific maternal antibodies on *Campylobacter jejuni* colonization in young chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:5372-5379.

Sahin, O., Q. Zhang, J. C. Meitzler, B. S. Harr, T. Y. Morishita, and R. Mohan. 2001. Prevalence, antigenic specificity, and bactericidal activity of poultry anti-*Campylobacter* maternal antibodies. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:3951-3957.

Schoeni, J. L., and M. P. Doyle. 1992. Reduction of *Campylobacter jejuni* colonization of chicks by cecum-colonizing bacteria producing anti-*C. jejuni* metabolites. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:664-670.

- Schoeni, J. L., and A. C. L. Wong. 1994. Inhibition of *Campylobacter jejuni* colonization in chicks by defined competitive exclusion bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 60:1191-1197.
- Schorr, D., H. Schmid, H. L. Rieder, A. Baumgartner, H. Vorkauf, and A. Burnens. 1994. Risk factors for *Campylobacter* enteritis in Switzerland. Zentralbl. Hyg. Umweltmed. 196:327-337.
- Sebald, M., and M. Véron. 1963. Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions. Ann. Inst. Pasteur 105:897-910.
- Shane, S. M. 2000. *Campylobacter* infection of commercial poultry. Rev. Sci. Tech. 19:376-395.
- Shanker, S., A. Lee, and T. C. Sorrell. 1986. *Campylobacter jejuni* in broilers: the role of vertical transmission. J. Hyg. (Lond.) 96:153-159.
- Shanker, S., A. Lee, and T. C. Sorrell. 1988. Experimental colonization of broiler chicks with *Campylobacter jejuni*. Epidemiol. Infect. 100:27-34.
- Shanker, S., A. Lee, and T. C. Sorrell. 1990. Horizontal transmission of *Campylobacter jejuni* amongst broiler chicks: experimental studies. Epidemiol. Infect. 104:101-110.
- Shreeve, J. E., M. Toszeghy, M. Pattison, and D. G. Newell. 2000. Sequential spread of *Campylobacter* infection in a multipen broiler house. Avian Dis. 44:983-988.
- Shreeve, J. E., M. Toszeghy, A. Ridley, and D. G. Newell. 2002. The carry-over of *Campylobacter* isolates between sequential poultry flocks. Avian Dis. 46:378-385.
- Siemer, B. L., C. S. Harrington, E. M. Nielsen, B. Borck, N. L. Nielsen, J. Engberg, and S. L. W. On. 2004. Genetic relatedness among *Campylobacter jejuni* serotyped isolates of diverse origin as determined by numerical analysis of amplified fragment length polymorphism (AFLP) profiles. J. Appl. Microbiol. 96:795-802.
- Sjögren, E., and B. Kaijser. 1989. Serotyping studies of *Campylobacter* from naturally colonized chickens. Epidemiol. Infect. 102:215-219.
- Skirrow, M. B. 1977. *Campylobacter* enteritis: a „new“ disease. Br. Med. J. 2:9-11.
- Skirrow, M. B. 1991. Epidemiology of *Campylobacter* enteritis. Int. J. Food Microbiol. 12:9-16.
- Slader, J., G. Domingue, F. Jørgensen, K. McAlpine, R. J. Owen, F. J. Bolton, and T. J. Humphrey. 2002. Impact of transport crate reuse and of catching and processing on *Campylobacter* and *Salmonella* contamination of broiler chickens. Appl. Environ. Microbiol. 68:713-719.
- Stern, N. J., P. Fedorka-Cray, J. S. Bailey, N. A. Cox, S. E. Craven, K. L. Hiett, M. T. Musgrove, S. Ladely, D. Cosby, and G. C. Mead. 2001. Distribution of *Campylobacter* spp. in selected U.S. poultry production and processing operations. J. Food Prot. 64:1705-1710.

- Stern, N. J., K. L. Hiett, G. A. Alfredsson, K. G. Kristinsson, J. Reiersen, H. Hardardottir, H. Briem, E. Gunnarsson, F. Georgsson, R. Lowman, E. Berndtson, A. M. Lammerding, G. M. Paoli, and M. T. Musgrove. 2003. *Campylobacter* spp. in Icelandic poultry operations and human disease. *Epidemiol. Infect.* 130:23-32.
- Stern, N. J., and S. U. Kazmi. 1989. *Campylobacter jejuni*. In: Doyle, M. P. Food-borne bacterial pathogens. Marcel Dekker Inc., New York, 71-110.
- Stern, N. J., M. C. Robach, N. A. Cox, and M. T. Musgrove. 2002. Effect of drinking water chlorination on *Campylobacter* spp. colonization of broilers. *Avian Dis.* 46:401-404.
- SVARM 2002. Swedish Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring. 2003. Department of Antibiotics. National Veterinary Institute, Uppsala, Sweden.
- Tajada, P., J. L. Gómez-Garcés, J. I. Alós, D. Balas, and R. Cogollos. 1996. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* to 12 β -lactam agents and combinations with β -lactamase inhibitors. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40:1924-1925.
- Tauxe, R. V. 1992. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. p. 9-19. In Nachamkin, I., M. J. Blaser, and L. S. Tompkins (ed.). *Campylobacter jejuni*: current status and future trends. Am. Soc. Microbiol., Washington, D.C.
- Tjaniadi, P., M. Lesmana, D. Subekti, N. Machpud, S. Komalarini, W. Santoso, C. H. Simanjuntak, N. Punjabi, J. R. Campbell, W. K. Alexander, H. J. Beecham III, A. L. Corwin, and B. A. Oyofe. 2003. Antimicrobial resistance of bacterial pathogens associated with diarrheal patients in Indonesia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 68:666-670.
- Tokarzowski, S., A. Wernicki, M. Kankofer, and R. Urban-Chmiel. 2004. Lipid peroxidation as the additional indicator of transport stress in broilers. *Pol. J. Vet. Sci.* 7:109-112.
- Van de Giessen, A., S.-I. Mazurier, W. Jacobs-Reitsma, W. Jansen, P. Berkers, W. Ritmeester, and K. Wernars. 1992. Study on the epidemiology and control of *Campylobacter jejuni* in poultry broiler flocks. *Appl. Environ. Microbiol.* 58:1913-1917.
- Waldenström, J., T. Broman, I. Carlsson, D. Hasselquist, R. P. Achterberg, J. A. Wagenaar, and B. Olsen. 2002. Prevalence of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari*, and *Campylobacter coli* in different ecological guilds and taxa of migrating birds. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:5911-5917.
- Wassenaar, T. M., and D. G. Newell. 2000. Genotyping of *Campylobacter* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:1-9.
- Wedderkopp, A., K. O. Gradel, J. C. Jørgensen, and M. Madsen. 2001. Pre-harvest surveillance of *Campylobacter* and *Salmonella* in Danish broiler flocks: a 2-year study. *Int. J. Food Microbiol.* 68:53-59.

Yan, W., N. Chang, and D. E. Taylor. 1991. Pulsed-field gel electrophoresis of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* genomic DNA and its epidemiologic application. J. Infect. Dis. 163:1068-1072.

Yogasundram, K., S. M. Shane, and K. S. Harrington. 1989. Prevalence of *Campylobacter jejuni* in selected domestic and wild birds in Louisiana. Avian Dis. 33:664-667.

Zimmer, M., H. Barnhart, U. Idris, and M. D. Lee. 2003. Detection of *Campylobacter jejuni* strains in the water lines of a commercial broiler house and their relationship to the strains that colonized the chickens. Avian Dis. 47: 101-107.

9 Dank

Allen, die in irgendeiner Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, möchte ich an dieser Stelle herzlich danken. Besonderer Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. Roger Stephan für die Überlassung des spannenden Themas, die hilfreiche fachliche Beratung und die hervorragende Betreuung

Herrn Prof. Dr. Richard Hoop für die Übernahme des Korreferates

Für die finanzielle Unterstützung: Bell AG, Geflügel; Optigal SA; Hermann Herzer Stiftung

Herrn Dr. Franz Renggli für die kompetente Einführung auf den Pouletmastbetrieben und die konstruktive Zusammenarbeit

Herrn Christoph Schatzmann und Herrn Max von Euw für die hilfreichen Gespräche im Zusammenhang mit der Geflügelindustrie

Den Mitarbeitern der Firma Bell AG, Geflügel für die freundliche Aufnahme

Frau Dr. Christine Lobsiger für die Begleitung auf den Pouletmastbetrieben

Den Betriebsleitern der Pouletmastbetriebe, die mich stets auf ihren Betrieben willkommen geheissen haben

Frau Dr. Marzena Anna Zychowska für die Durchführung der PFGE und die tatkräftige Unterstützung im Labor

Frau Sandra Schumacher für die Durchführung der RFLP-Analysen

Herrn Jerzy Giletycz für die stets pünktliche Herstellung der Nährmedien

Herrn Dr. Claudio Zweifel für die kleinen, aber feinen Hilfestellungen überall dort, wo sie gerade nötig waren

Allen Mitarbeitern des ILS für die anregenden Gespräche und das angenehme Arbeitsklima

Herrn Nils Vahlkvist für die Übernahme der Kosten für den Druck dieser Arbeit

Meiner Familie Mama, Oma, Veronica und Marcel für die Aufmunterungen und das mir stets entgegengebrachte Verständnis

Curriculum vitae

Name	Marianne, Ring
Geburtsdatum	2. August 1974
Geburtsort	Luzern
Nationalität	Schweiz und Schweden
Heimatort	Zürich
1981 – 1987	Primarschule in Zürich-Wollishofen
1987 – 1993	Gymnasium an der Kantonsschule Freudenberg in Zürich
1993	Matura Typus B
1993 – 1997	Studium der Biologie an der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich, Schweiz
1997	Diplom in Verhaltens- und Neurobiologie an der Eidgenössischen Technischen Hochschule Zürich, Schweiz
1997 – 2001	Studium der Veterinärmedizin an der Universität Zürich, Schweiz
2001	Staatsexamen an der Universität Zürich, Schweiz
2000 – 2001	Wochenendedienst bei Vet-Med-Labor AG, Zürich, Schweiz
2001 – 2003	Assistentztierärztin, Tierarztpraxis Farnenbüel von Felizian Kuster, Bezirkstierarzt, Eschenbach (SG), Schweiz
2003 – 2004	Doktorandin, Institut für Lebensmittelsicherheit und –hygiene der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich, Zürich, Schweiz
20. Dezember 2004	